TARTU ÜLIKOOL

Loodus- ja täppisteaduste valdkond

Füüsika instituut

Markus Kivimäe

Heeliumi metastabiilses seisundis 2^3S olevate aatomite kontsentratsiooni määramine He/O_2 plasmas neeldumisspektroskoopia meetodil

Bakalaureusetöö (12 EAP)

Füüsika, keemia ja materjaliteadus

Juhendaja: Jüri Raud, PhD

Tartu 2025

Heeliumi metastabiilses seisundis 2^3S olevate aatomite kontsentratsiooni määramine He/O_2 plasmas neeldumisspektroskoopia meetodil

Metastabiilsete olekute kiirguslik eluiga on suhteliselt pikk, mistõttu on nende kontsentratsioon plasmas kõrge. See võimaldab neil efektiivselt osaleda molekulide dissotsiatsioonis ja ionisatsioonis. Käesolevas töös määrati heeliumi metastabiilses seisundis He 2^3S olevate aatomite kontsentratsioon He/O_2 plasmas. O_2 sisaldust varieeriti plasma gaasisegus. Kontsentratsioonid määrati neeldumisspektroskoopia meetodil. Töö käigus määrati ka gaasi temperatuur, mis on oluline parameeter metastabiilide kontsentratsiooni hindamisel. Gaasi temperatuuriks võeti N_2(C-B, 0-2) ülemineku pöörlemistemperatuur. Töö käigus näidati, et juba väikesed hapniku lisandid vähendavad oluliselt heeliumi metastabiilsete aatomite kontsentratsiooni.

Märksõnad: He/O2 plasma, He 2^3S metastabiil, neeldumisspektroskoopia

CERCS: P240 Gaasid, vedelike dünaamika, plasma

Determination of 2^3S metastable helium atom concentration in He/O_2 plasma by absorption spectroscopy

The radiative lifetime of metastable states is relatively long, which results in their relatively high concentration in plasma. This allows them to effectively participate in molecular dissociation and ionization processes. In this study, the concentrations of He 2^3S metastable atoms in He/O_2 plasma were determined. The O_2 content in the plasma gas mixture was varied. The concentrations were measured using absorption spectroscopy. The gas temperature was also determined, as it is a necessary parameter for estimating metastable concentrations. The gas temperature was taken to be the rotational temperature of the N_2(C-B, 0-2) transition. The study showed that even small additions of oxygen significantly reduce the concentration of helium metastables.

Keywords: He/O_2 plasma, He 2^3S metastable, absorption spectroscopy

CERCS: P240 Gases, fluid dynamics, plasmas

Sisukord

Sissejuhatus 4

1. Teoreetiline taust 5

1.1 Diagnostiliste üleminekute energiaskeem 5

1.2 Heeliumi metastabiilses seisundis olevate aatomite teke ja kadu He/O_2 plasmas 6

1.3 Spektrijoon kuju ja laienemise mehhanismid 7

1.4 Osakeste kontsentratsiooni leidmine neelduvuse järgi 9

1.5 Spektrijoone kuju analüüs kui plasmaparameetrite hindamise meetod 10

2. Metoodika 12

2.1 Eksperimendiseade 12

2.2 Optilise süsteemi justeerimine 13

2.3 Eksperimendi läbiviimine 15

3. Tulemused ja analüüs 17

3.1 Kiirgusspektrid 17

3.2 Gaasi temperatuur 18

3.3 Elektrilised parameetrid 20

3.4 Metastabiilses seisundis He 2^3S olevate aatomite kontsentratsioon 22

4. Kokkuvõte 27

Kirjandus 28

Lisad 31

Lisa 1. Artikkel 31

Lihtlitsents 42

Sissejuhatus

Tänapäeval kasutatakse plasmapõhiseid tehnoloogiaid laialdaselt eri valdkondades. Igapäevaelus leiab plasma rakendust näiteks valgusallikates ja telerites, kus selle võimet kiirata tõhusalt nähtavat või ultraviolettvalgust kasutatakse valguse tekitamiseks. Lisaks eksisteerib hulk tehnoloogiaid, mis põhinevad plasma võimel puhtalt ja tõhusalt toota erinevaid reaktiivseid osakesi (näiteks O, O_3, OH, N, NO_2). Neid aktiivseid osakesi saab rakendada mitmesugustes protsessides, näiteks õhu ja vee puhastamisel, pindade töötlemisel, õhukeste kilede tekitamisel ning väetiste keskkonnasäästlikul tootmisel [1], [2], [3], [4].

Plasmameditsiin on kiiresti arenev valdkond, kus plasmat kasutatakse mitmesugustes rakendustes, näiteks hambaravis, haavade paranemise soodustamisel ning potentsiaalselt ka vähiravis [5], [6], [7]. Plasma poolt toodetud reaktiivsete ühendite, nagu H_2O_2, O, O_2, O_3, OH, NO_2^-, NO_3^- jm, on arvatud omavat märkimisväärset mõju ravi valdkonnas.

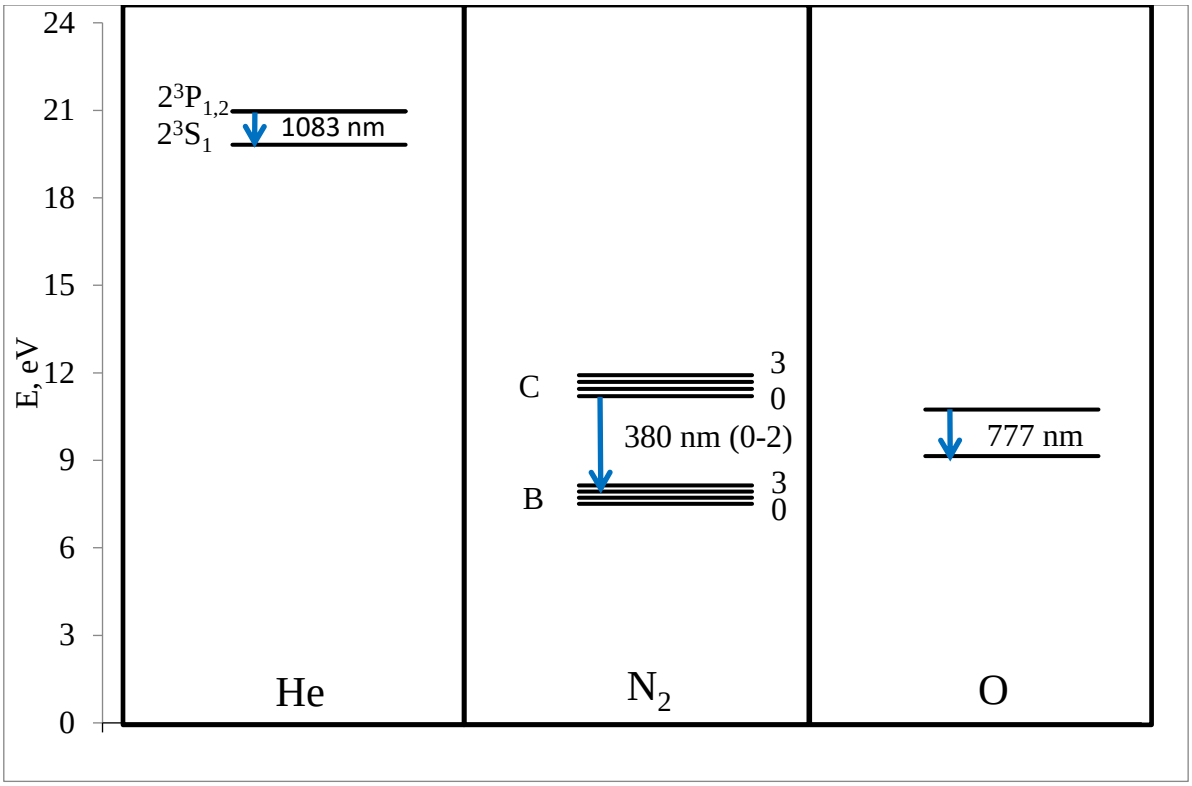
Käesolev bakalaureusetöö on osa laiemast teadusprojektist, mille üheks eesmärgiks oli uurida plasma toimel vedelikesse tekkivate reaktiivsete hapnikuühendite mõju vähirakkudele. Reaktiivsete osakeste tekitamiseks kasutati kõrgsageduslikku Ar/O_2 ja He/O_2 gaasisegude plasmat. Reaktiivsete osakeste tekkimise efektiivsus sõltub mitmetest füüsikalistest parameetritest, nagu gaasisegu koostis, rõhk ja rakendatud elektrivälja tugevus. Olulist rolli mängib ka metastabiilses olekus aatomite (metastabiilide) kontsentratsioon. Metastabiilide kiirguslik eluiga on suhteliselt pikk, mille tõttu on nende kontsentratsioon plasmas kõrge. Samuti on neil kõrge sisemine energia, mis võimaldab neil tõhusalt osaleda molekulide dissotsiatsiooni ja ionisatsioonini viivates reaktsioonides. Antud töös uurisin metastabiilide kontsentratsiooni sõltuvust O_2 sisaldusest plasmagaasis. Töö eksperimentaalses osas määrati metastabiilsete aatomite kontsentratsiooni nii Ar/O_2 kui ka He/O_2 gaasisegudes. Ar/O_2 gaasisegu tulemused on avaldatud teadusartiklis (Lisa 1), kus minu panuseks oli neeldumisspektroskoopia mõõtmiste läbiviimine. Käesolevas bakalaureusetöös neid mõõtmiste metoodikaid ja tulemusi ei käsitleta.

Antud töö eesmärkideks olid: 1) tüüritava lainepikkusega laseri Thorlabs TLK-L1050M seadistamine, 2) neeldumisspektroskoopia mõõtmiste jaoks vajaliku optilise süsteemi koostamine ja justeerimine, 3) He/O_2 plasmas heeliumi 2^3S-2^3P ülemineku neelduvusspektri registreerimine, 4) metastabiilses olekus olevate heeliumi 2^3S aatomite kontsentratsiooni määramine ning 5) gaasi temperatuuri hindamine, mis on vajalik parameeter metastabiilide kontsentratsiooni arvutamiseks.

1. Teoreetiline taust

1.1 Diagnostiliste üleminekute energiaskeem

Diagnostiliste üleminekute energiaskeem, on esitatud joonisel 1.1.



Joonis 1.1 Diagnostiliste üleminekute energiaskeem

Käesolevas töös määrati heeliumi aatomite kontsentratsioon ergastatud olekus 2^3S, mille energia on 19.82 eV. Selleks kasutati neelduvusspektroskoopia meetodit ning 2^3S-2^3P üleminekut. Antud ülemineku kõrgem energiatase (2^3P_J) on lõhenenud ning sisaldas kolme alanivood (J = 0, 1, 2). Meie aparatuur võimaldas neist registreerida kahe (J = 1 ja J = 2) neeldumisjooned. Metastabiilsete aatomite kontsentratsiooni arvutamiseks vajalikud andmed on esitatud tabelis 1 [8]:

Tabel 1. Heeliumi 2^3S seisundis olevate aatomite kontsentratsiooni arvutamiseks vajalikud konstandid: λ – tsentraalne lainepikkus, g_i ja g_k – alumise ja ülemise seisundi statistilised kaalud, A_{ki} – Einsteini koefitsient, E_i ja E_k – alumise ja ülemise seisundi energia.

Üleminek	λ (nm)	g_i	g_k	A_{ki} (s^{-1})	E_i (eV)	E_k (eV)
2^3S_1-2^3P_1	1083.025011	3	3	$1.0216 \cdot 10^7$	19.819614525	20.96409636464
2^3S_1-2^3P_2	1083.033978	3	5	$1.0216 \cdot 10^7$	19.819614525	20.96408688908

Energiaskeemil on näidatud ka gaasi temperatuuri määramisel kasutatud N_2 teise positiivse süsteemi võnkeüleminekut (0–2), mis kiirgab lainepikkusel 380 nm. Lisaks on skeemil ka üks intensiivsemaid hapniku aatomi üleminekuid, mis kiirgab lainepikkusel 777 nm.

He, O_2, N_2 ionisatsioonienergiad on vastavalt 24.6 eV, 12.1 eV ja 15.6 eV [9], [10].

1.2 Heeliumi metastabiilses seisundis olevate aatomite teke ja kadu He/O_2 plasmas

Antud peatükk on koostatud allika [11] põhjal. Heeliumi metastabiilsed aatomid tekivad plasmas peamiselt elektronlöögiga heeliumi põhiseisundist:

$$e + He \rightarrow He^* + e \tag{1.1}$$

kus He^* tähistab metastabiilset heeliumi aatomit.

Heeliumi metastabiilid saavad tekkida ka atomaarse ja molekulaarse heeliumi ioonide rekombineerumisel, kuid see tekkemehhanism on võrreldes eelnevaga oluliselt ebaefektiivsem. Peamine metastabiilide kadu mehhanism He/O_2 gaasisegus on energiaülekanne heeliumi metastabiillilt hapniku molekulile. Vastav reaktsioon on järgmine:

$$He^* + O_2 \rightarrow O_2^+ + He + e \tag{1.2}$$

See reaktsioon, mida nimetatakse Penningi ionisatsiooniks, on võimalik seetõttu, et heeliumi metastabiili energia ületab hapniku ionisatsioonipotentsiaali. Kuigi elektronlöögil põhinev ionisatsioon molekulaarse hapniku põhiseisundist on energeetiliselt soodsam, on see väikeste hapniku kontsentratsioonide (<1%) korral ebatõenäoline. Seetõttu on Penningi reaktsioon madala O_2 sisaldusega He/O_2 plasmas peamine ionisatsioonimehhanism. Lisaks vähendavad mitteelastsed põrked hapniku molekulide ja elektronide vahel elektronide energiat plasmas. See võib omakorda vähendada metastabiilide tekkekiirust (vt valem 1.1), mis põhjustab nende kontsentratsiooni languse.

Kokkuvõttes võib öelda, et kuigi heeliumi metastabiilide kiirguslik eluiga on väga pikk (umbes 10^4 s), võivad juba väikesed molekulaarsete gaaside lisandid lühendada nende eluiga kuni nanosekunditeni.

1.3 Spektrijoone kuju ja laienemise mehhanismid

Spektrijooned tekivad siis, kui aatomid, ioonid või molekulid kiirgavad või neelavad elektromagnetkiirgust kindlatel lainepikkustel. Igal spektrijoonel on alati lõplik, nullist erinev laius. Valguse neeldumisel või kiirgumisel toimub üleminek ühelt energiatasemelt teisele, mistõttu on neeldumis- ja kiirgusjooned üldiselt samal lainepikkusel ja sarnase kujuga. Spektrijoonte kuju ja laius sõltuvad osakeste energiatasemete struktuurist ja nende olekute elueast, aga ka keskkonnatingimustest nagu rõhk, temperatuur ja osakeste tihedus. Kuna neid mõjutavaid tegureid on palju, võib spektrijoonte teoreetiline modelleerimine osutuda keerukaks.

Spektrijoonte kuju kirjeldamiseks kasutatakse sageli sobitusprofiile. Kaks kõige levinumat kellukesekujulist profiili on Lorentzi profiil (tuntud ka kui Cauchy jaotus) ja Gaussi jaotus.

Lorentzi profiil avaldub järgmiselt:

$$f(\lambda, \lambda_0, \gamma) = \frac{1}{\pi} \frac{\gamma}{(\lambda-\lambda_0)^2+\gamma^2} \tag{1.3}$$

kus γ on Lorentzi profiili laiusparameeter. Selle profiili täislaius poole kõrgusel (FWHM, ingl. full width at half maximum) on:

$$\Delta\lambda_L = 2\gamma \tag{1.4}$$

Gaussi profiil avaldub kujul:

$$f(\lambda, \lambda_0, \sigma) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \exp\left(-\frac{1}{2}\left(\frac{\lambda-\lambda_0}{\sigma}\right)^2\right) \tag{1.5}$$

kus σ on vastav laiuseparameeter. Sellele profiilile vastav FWHM on:

$$\Delta\lambda_D = 2\sigma\sqrt{2\ln 2} \tag{1.6}$$

Mõningaid spektrijoonte laienemismehhanisme saab kirjeldada erinevate teoreetiliste profiilidega. Lorentzi profiil sobib näiteks loomuliku laienemise ja Van der Waalsi laienemise kirjeldamiseks. Gaussi jaotus kirjeldab seevastu laienemist, mis on tingitud osakeste termilisest liikumisest, eelkõige Doppleri laienemist.

Loomulik laienemine on seotud ergastatud olekute lõpliku elueaga, mis tuleneb Heisenbergi määramatuse printsiibist. Energia ja aja määramatuse tõttu esineb kiirgavate ja neelavate footonite energiajaotuses hajuvus, mis põhjustab spektrijoone laienemist. Loomuliku

laienemise tulemusena tekkinud poollaius on üldjuhul väga väike, mistõttu seda sageli ei arvestata.

Rõhulaienemine tuleneb kiirgava või neelava osakese interaktsioonidest ümbritsevate osakestega. Need vastasmõjud (kas läbi potentsiaaliväljade või otseste kokkupõrgete) mõjutavad energiatasemete asetust ja ergastatud olekute kestust, muutes seeläbi spektrijoonte kuju ja laiust.

Van der Waalsi laienemine on rõhulaienemise alaliik, mis tekib siis, kui ergastatud osake satub lähestikku neutraalse osakesega. Nendevaheline potentsiaalne vastasmõju mõjutab ergastatud oleku kestust, põhjustades energiatasemete ebastabiilsust ja spektrijoone laienemist. Van der Waalsi laienemise poollaiust saab hinnata järgmise valemi abil [12]:

$$W_w(T_g) = 8.18 \cdot 10^{-12} \lambda^2 \left(\alpha \langle \overline{R^2} \rangle\right)^{2/5} \left(T_g/\mu\right)^{3/10} N \tag{1.7}$$

kus λ on vaadeldava spektrijoone lainepikkus, α neutraalse osakese polariseeritavus, T_g gaasi temperatuur, μ taandatud mass, N neutraalsete osakeste kontsentratsioon ning $\langle \overline{R^2} \rangle$ ülemise ja alumise kvantoleku koordinaatvektorite ruutude vahe.

Koordinaatide ruutkeskmiste vahe leitakse valemiga:

$$\langle \overline{R^2} \rangle = \langle \overline{R_U^2} \rangle - \langle \overline{R_L^2} \rangle \tag{1.8}$$

kus iga seisundi väärtus arvutatakse järgmiselt:

$$\langle \overline{R_i^2} \rangle = \frac{1}{2} n_i^{*2} [5 n_i^{*2} + 1 - 3 l_i (l_i + 1)] \tag{1.9}$$

kus l_i on orbitaalkvantarv ning n_i^* efektiivne kvantarv, mis arvutatakse valemiga:

$$n_i^{*2} = \frac{E_H}{E_p - E_i} \tag{1.10}$$

kus E_H on Rydbergi energia, E_p kiirgava aatomi ionisatsioonienergia ja E_i ergastusenergia vastavale kvanttasemele (ülemine või alumine).

Starki laienemine on põhjustatud välise elektrivälja mõjust kiirgavale osakesele ning põhineb Starki efektil. Kuna elektrivälja tugevus sõltub laetud osakeste kontsentratsioonist, saab Starki laienemise ulatuse kaudu hinnata elektronide kontsentratsiooni plasmas [13]. Sarnaselt Van der Waalsi laienemisele on ka Starki laienemine kirjeldatav Lorentzi profiiliga.

Doppleri laienemine tuleneb kiirgavate või neelavate osakeste soojusliikumisest. Aatomite ja molekulide juhuslik liikumine põhjustab kiirgus- või neeldumissageduse nihkumise sõltuvalt osakese liikumissuunast vaatleja suhtes. Kuna osakesed liiguvad erinevates suundades ja erinevate kiirustega, tekib sagedusnihete statistiline jaotus, mille tulemuseks on spektrijoone laienemine ja Gaussi kujuline profiil.

Doppleri laienemise ulatus sõltub temperatuurist: mida kõrgem on temperatuur, seda suurem on osakeste keskmine kineetiline energia ning seda ulatuslikum on sagedusnihe. Selle tulemusena muutub spektrijoon laiemaks. Doppleri laienemise poollaius (FWHM) avaldub artiklite [14] ja [15] põhjal järgmise valemina:

$$\Delta\lambda_D = \sqrt{\frac{8kT\ln 2}{mc^2}}\,\lambda_0 \tag{1.11}$$

kus *k* on Boltzmanni konstant, *T* gaasi temperatuur, *m* osakese aatommass ja *c* valguse kiirus.

Voigti profiil on Gaussi ja Lorentzi profiilide konvolutsioon, mis võimaldab kirjeldada spektrijoone kuju olukorras, kus sellele mõjuvad samaaegselt nii termilised liikumised (Doppleri laienemine) kui ka osakestevahelised vastasmõjud (näiteks rõhulaienemine). Kuna reaalsetes füüsikalistes süsteemides esinevad need mehhanismid sageli koos, pakub Voigti profiil täpsema ja usaldusväärsema kirjelduse spektrijoone tegelikust kujust. Voigti profiil on defineeritud kujul:

$$V(\lambda,\sigma,\gamma) = \int_{-\infty}^{\infty} G(\lambda',\sigma)\,L(\lambda-\lambda',\gamma)\,d\lambda' \tag{1.12}$$

1.4 Osakeste kontsentratsiooni leidmine neelduvuse järgi

Keskkonda läbinud valguse intensiivsust saab kirjeldada Beer–Lamberti seadusega:

$$I(\lambda) = I_0(\lambda)e^{-k(\lambda)l} \tag{1.13}$$

kus $I_0(\lambda)$ on lähtevalguse (nt laserkiirguse) intensiivsus keskkonda sisenemisel (plasmata olukorras), $I(\lambda)$ keskkonda (plasmat) läbinud valguse intensiivsus, $k(\lambda)$ lainepikkusest sõltuv neeldumiskoefitsient ja l neeldumistee pikkus.

Kordajat $k(\lambda)l$ nimetatakse optiliseks tiheduseks, mis avaldub kujul [16]:

$$k(\lambda)l = \ln\left(\frac{I_0(\lambda)}{I(\lambda)}\right) \tag{1.14}$$

Neelavate osakeste kontsentratsioon kiirguse neeldumisel avaldub kujul [16]:

$$n_j l = \frac{8\pi g_j c}{\lambda_0^4 g_i A_{ij}} \int k(\lambda) l d\lambda \quad (1.15)$$

kus λ_0 on spektrijoone kesklainepikkus, g_i ja g_j vastavalt alumise ja ülemise oleku statistilised kaalud, A_{ij} vastava ülemineku Einsteini koefitsient.

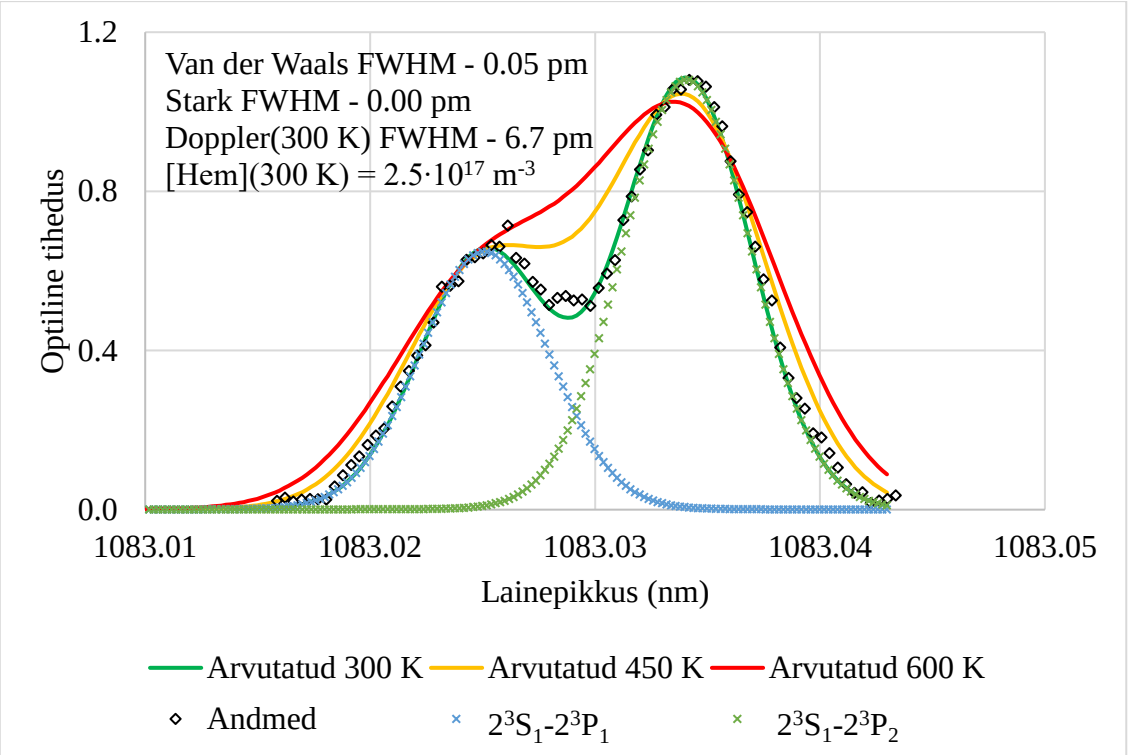
1.5 Spektrijoone kuju analüüs kui plasmaparameetrite hindamise meetod

Spektrijoone kuju analüüs võimaldab hinnata mitmeid olulisi plasma parameetreid, sealhulgas gaasi temperatuuri [17], elektronide temperatuuri ning kontsentratsiooni [18]. Meetodi piirang seisneb aga selles, et üldjuhul saab spektrijoone kuju analüüsist määrata vaid ühe parameetri, teised laienemist mõjutavad parameetrid peavad olema juba eelnevalt kindlaks tehtud muude meetodite abil. Näiteks gaasi temperatuuri määramiseks spektrijoone kuju põhjal tuleb eelnevalt teada resonants-, rõhu- ja Starki laienemise panust vastava joone puhul.

Teatud plasma tingimuste või spetsiifiliste energiaüleminekute korral võib analüüs märgatavalt lihtsustuda. Näiteks heeliumi ülemineku 2^3S-2^3P ei ole resonantslaienemist vaja arvesse võtta, kuna puudub üleminek põhiseisundisse. Madala rõhuga plasmades, kus elektronide kontsentratsioon on väike, on spektrijoone peamiseks laienemise mehhanismiks Doppleri laienemine. Sellisel juhul saab gaasi temperatuuri määrata otse Doppleri profiili laiuse alusel (valem 1.11).

Joonisel 1.2 on näitena esitatud käesolevas töös laseri kontrollmõõtmistel registreeritud neeldumisspekter heeliumi madalarõhulise (2.2 Torr) huumlahenduse korral lainepikkusel 1083 nm. Näidatud on nii mõõdetud neeldumisspekter kui ka erinevatel temperatuuridel arvutatud spektrid. Tänu madalale rõhule on Van der Waalsi laienemine tühine ning elektronide madala kontsentratsiooni tõttu võib Starki laienemise mõju samuti arvestamata jätta. Seetõttu domineerib spektrijoone laienemisel Doppleri mehhanism ja joone kuju saab kirjeldada Gaussi profiiliga.

Antud näite puhul tagas parima vastavuse mõõdetud ja arvutatud spektrite vahel temperatuur $T = 300$ K.

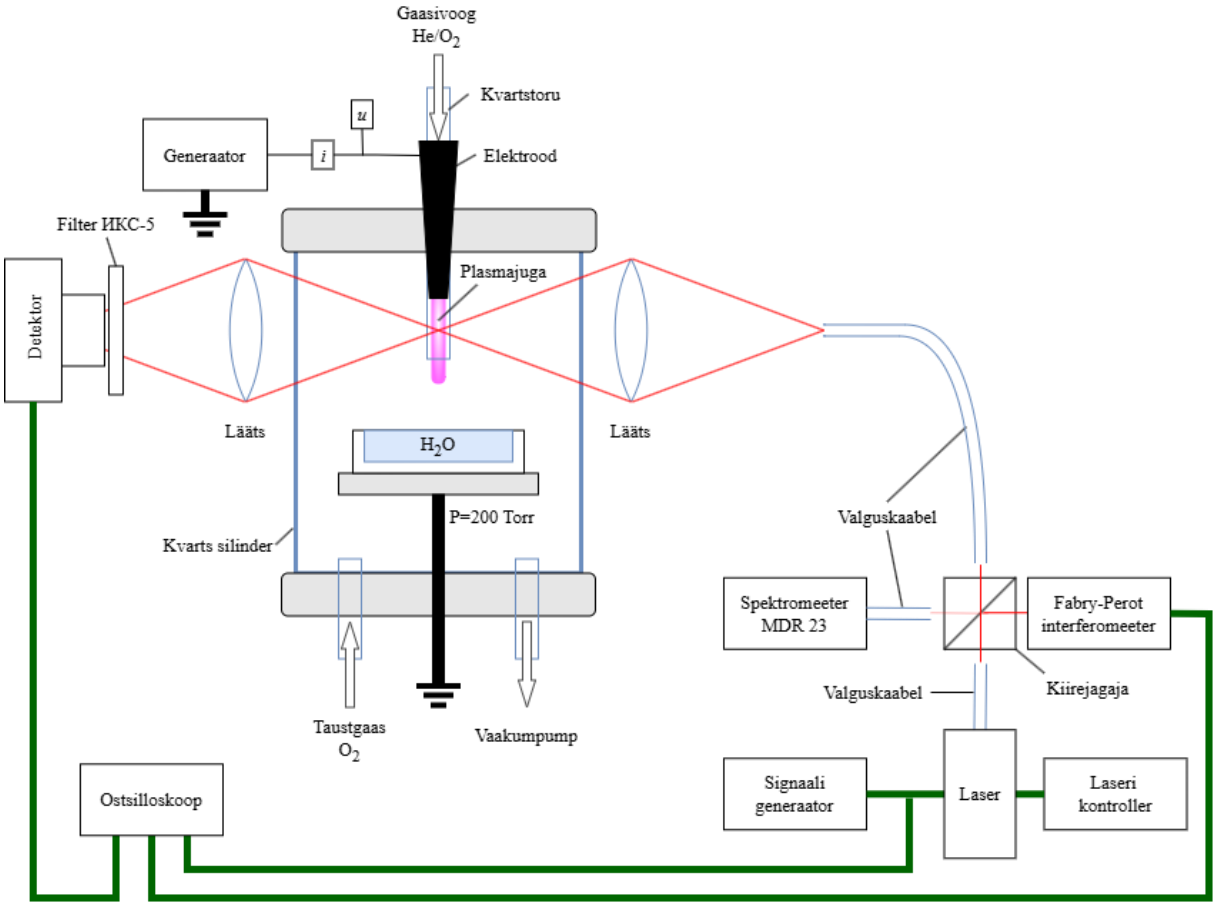


Joonis.1.2 Madalrõhulise heeliumi plasma 2^3S-2^3P_j ülemineku neeldumisprofiilid erinevatel gaasi temperatuuridel.

2. Metoodika

2.1 Eksperimendiseade

Katseskeem on esitatud joonisel 2.1.



Joonis 2.1 Katseskeem.

Plasma tekitati kvartstorus (sisemine läbimõõt 1 mm, välimine 3 mm) raadiosagedusliku generaatori Kurt J. Lesker R301 abil (sagedus 13,6 MHz, maksimaalne võimsus 300 W). Kvartstoru ümber paiknes 30 mm laiune elektrood, mis oli ühendatud generaatoriga. Torusse juhiti kas heelium või heelium-hapniku segu. Heeliumi vookiirus oli kõigis katsetes konstantne (400 sccm), samas kui hapniku vookiirust varieeriti vahemikus 0–2.4 sccm. Katseseade võimaldas töödelda vedelikke (Lisa 1). Käesolevas töös plasma mõju vedelikele ei uuritud, kuid kuna tööga seotud projektis oli fookus veetöötlusel ja vee aurumine võis plasma parameetreid mõjutada, siis oli ka antud töös katsekambris anum deioniseeritud veega. Plasma ei olnud kontaktis veega.

Katsed viidi läbi kvartsist silindris, mis võimaldas vedelikke töödelda välisõhust eraldatud kontrollitud gaasikeskkonna. Silindrisse juhiti eraldi gaasitrakti kaudu taustgaasina hapnik

vookiirusega 150 sccm. Gaasivoo kiirusi reguleeriti Alicat vookontrolleritega. Gaasi rõhk silindris oli 200 Torr ja see saavutati vaakumpumba ning nõelventiili abil.

Plasma elektriliste parameetrite mõõtmiseks kasutati ostsilloskoopi TDS 540B. Pinget mõõdeti 1:100 mahtuvusliku pingejaguri ja Tektronix P6139A 1:10 pingejaguriga, voolutugevust mõõdeti Pearson 6585 voolutrafoga.

Plasmas tekkiva kiirguse spektrite mõõtmiseks kasutati spektromeetreid OceanOptics HR2000, HR4Pro ja MDR-23. Kiirgus juhiti spektromeetritesse valguskiu abil. OceanOptics HR2000 lahutusvõime oli 1.5 nm ning mõõdetav lainepikkuste vahemik 200-1100 nm. HR4Pro lahutusvõime oli 1 Å ja mõõtevahemik 275-414 nm. Spektromeetrit MDR-23 kasutati peamiselt neeldumisspektroskoopia laseri justeerimiseks ning oli ühendatud CCD-kaameraga Apogee Altea. MDR-23 võimaldas korraga mõõta kuni 64 nm laiust lainepikkuste vahemikku.

Neeldumisspektroskoopia katsetes kasutati reguleeritava lainepikkusega laserit Thorlabs TLK-L1050M, mis koosnes dioodlaserist, kollimeerivast läätsest, difraktsioonvõrest ja peeglist. Laser kiirgas lainepikkuste vahemikus 980-1120 nm, kusjuures joone laius oli väiksem kui 130 kHz. Lainepikkuse jämedaks muutmiseks kasutati laseri stendile monteeritud samm-mootorit, mis pööras laseri resonaatori peeglit. Täpsemaks muutmiseks kasutati samm-mootori asemel piezotäiturit, mida juhtis signaaligeneraator Aim-TTi TG2511 koos võimendiga Thorlabs MDT694B. Laseri töövoolu ja temperatuuri reguleeriti kontrolleri THORLABS ITC4001 abil.

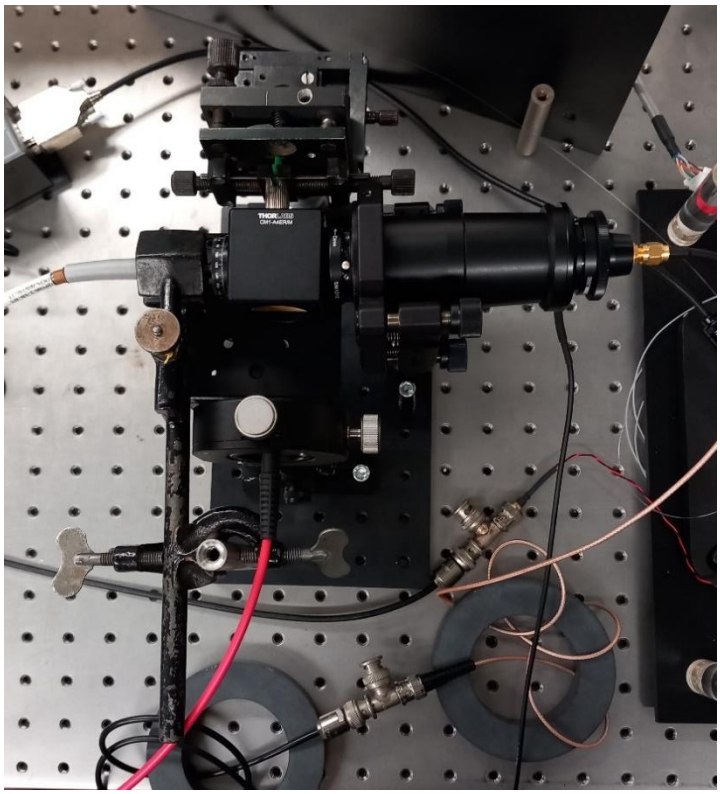
Laserikiir jagati kaheks Thorlabs BS020 kiirejaguriga: üks haru suunati Fabry-Perot interferomeetrisse Thorlabs SA-200 (FSR 1.5 GHz, finess ≈ 200), teine suunati läbi plasma. Plasmat läbinud laserikiire intensiivsust mõõdeti fotodetektoriga APD110A2. Detektori ees paiknes filter ИКС-5, mis blokeeris lainepikkused alla 800 nm (v.a umbes 400 nm piirkonnas, kus neeldumine ulatus ligi 95%-ni).

2.2 Optilise süsteemi justeerimine

Optilise süsteemi justeerimine oli vajalik nii kiirgus- kui ka neeldumisspektroskoopia mõõtmiste läbiviimiseks. Töös kõige ajamahukamaks osaks osutus neeldumisspektroskoopias kasutatava aparatuuri seadistamine ja optiliste elementide paigutamine. Laser ja Fabry-Perot interferomeeter olid tehase seadistusega, kuid need vajasid siiski täiendavat kohandamist töö eesmärkidest lähtuvalt.

Esmalt koostati laseri optilise diagnostika stend, millel paiknesid kiirejagaja, Fabry–Perot interferomeeter ja kolm optilise kiu hoidikut, mis võimaldasid kiu asendit täpselt reguleerida

(joonis 2.2). Kuna kasutatav laser ei kiirganud nähtava valguse alas, siis kasutati optiliste elementide paigutamiseks abivahendina punases piirkonnas kiirgavat nähtavat laserkiirt (nn laserpointerit). Laserkiir suunati optilise kiu abil kiirejagajasse, millest osa kiirgusest juhiti Fabry-Perot interferomeetrisse.



Joonis 2.2 Neelduvusspektroskoopia mõõtmistel kasutatud stend.

Interferomeetri peeglite asend oli tehaseseadistusega, mistõttu interferomeetri reguleerimine piirdus selle optilisele teljele joondamisega. Selleks eemaldati esmalt detektor ning interferomeeter asetati visuaalselt optilisele teljele. Seejärel suunati laserkiir läbi interferomeetri esimese diafragma, mis oli maksimaalselt suletud ja reguleeriti seadme nurka horisontaal- ja vertikaalsuunas, kuni tagumise diafragma taga olevale ekraanile ilmus jälgitav signaal ka minimaalse ava korral.

Kiirejagajast väljuv teine kiir juhiti optilise kiu kaudu kvartsist lahendustorule, suunates selle võimalikult risti toru teljega. Laserkiire fokusseerimiseks kvartstorule kasutati läätse. Torust väljuv laserkiir koondati teise läätse abil fotodetektorile. Kolmas, nõrgem kiir juhiti optilise kiu kaudu spektromeetrisse MDR-23, mille pilud olid maksimaalselt kitsaks reguleeritud.

Seejärel asendati punane laser tööks kasutatava reguleeritava lainepikkusega laseriga Thorlabs TLK-L1050M, mis töötab Littmani konfiguratsioonis. Kuigi seade oli tehase poolt

eelseadistatud, ei sobinud see seadistus uuritava heeliumi 1083 nm ülemineku neelduvuse uurimiseks. Esmalt reguleeriti jämedalt laseri lainepikkus vastavalt kasutusjuhendile ning kontrolliti seda spektromeetriga MDR-23. Heeliumi 1083 nm spektrijoone asukoha täpseks määramiseks registreeriti spektromeetriga MDR-23 joon heeliumi plasmas, millele seejärel seadistati laseri joon, et need langeksid täpselt kokku.

Edasi rakendati laseri peegli õlga pööravale piezotäiturile siinuspinge, mille abil skaneeriti uuritavat lainepikkuste vahemikku. Järgnevalt viidi läbi laseri peenjusteerimine Fabry-Perot interferomeetri abil, eesmärgiga saavutada stabiilne töö ühemoodilises režiimis. Ebapiisavalt häälestatud süsteemis ilmnevad moodihüpped ehk hüppelised lainepikkuse muutused. Peenjusteerimiseks reguleeriti laseri peegli õla asendit reguleerimiskruvide abil ning teostati täiendav häälestus laseri voolu ja temperatuuri muutmise teel, pidevalt jälgides Fabry–Perot interferomeetri signaali. Optimaalne häälestus saavutati, kui interferomeetri signaal muutus stabiilseks ja kadusid ebaregulaarsed jooned. Täiendavalt jälgiti, et neeldumisprofiili registreerimine toimuks piezotäiturit juhtiva siinuspinge kas tõusvas või langevas osas, mitte aga selle ekstreempunktide läheduses.

Spektrite mõõtmiseks eemaldati neeldumisspektroskoopias kasutatud fotodetektor ja selle ees paiknev filter, mille asemele paigaldati valguskiu hoidik. Kvartsist toru ja kiu vahel paiknes lääts (joonis 2.1), mis lõi 1:1 kujutise plasmatorust kiu otsa tasandisse. Kujutise järgi joondati kiu asend, mis võimaldas registreerida plasma spektrid 5 mm kauguselt plasmatoru otsast ülesvoolu.

2.3 Eksperimendi läbiviimine

Kõigepealt vakumeeriti katsekamber, et eemaldada süsteemist õhk. Baasvaakum, milleks oli 10^{-2} Torr, saavutati peale paaritunnist pumpamist. Seejärel reguleeriti vookontrollerite abil gaaside voolukiirused ning uuritav gaas lasti süsteemi. Kui rõhk oli tõusnud atmosfäärirõhuni, suleti pumpamisventiilid, avati kamber ning asetati sinna Petri tass deioniseeritud veega. Kuna gaasivoog säilis ka avatud kambri korral, ei pääsenud välisõhk ülesvoolu lahendustoru ega taustagaasi toru kaudu ning gaasitorustik jäi puhtaks. Lõpuks reguleeriti nõelventiili abil pumpamiskiirust, et viia rõhk 200 Torrini.

Järgmisena suleti katsekamber uuesti ning reaktori puhastamiseks õhu gaasidest see täideti uuritava gaasiga 760 Torrini ja vakumeeriti, nii tehti kokku kümme tsüklit. Et vältida vee keemaminekut, ei vakumeeritud süsteemi enam baasvaakumini, vaid rõhuni 20-30 Torr.

Seejärel käivitati raadiosageduslik generaator, rakendati gaasile pinge, ning plasma süüdati Tesla püstoli abil. Kõik katsed viidi läbi generaatori võimsusel 75 W. Pärast süütamist lasti plasmal mõni minut stabiliseeruda, enne kui alustati mõõtmistega.

Kiirgusspektri mõõtmistel kontrolliti kõigepealt valguskiu otsa asendi korrektsust ja vajadusel reguleeriti seda maksimeerides spektromeetris registreeritavate heeliumi spektrijoonte intensiivsust. Seejärel määrati optimaalne spektri kogumisaeg (aeg, mil CCD detektor valgust registreerib). Pärast seda viidi läbi mõõtmised. Hapniku kontsentratsiooni muutmisel oodati umbes kaks minutit, et plasma koostis stabiliseeruks ja spekter ei muutuks ajas.

Neeldumisspektroskoopia mõõtmistel enne iga mõõtmispunkti registreerimist kontrolliti, kas laser töötab ühemoodilises režiimis. Kui esines kõrvalmoode, reguleeriti laseri temperatuuri 0,001 K sammuga, kuni saavutati soovitud töörežiim. Katsepäeva jooksul püsis laseri lainepikkus üldiselt stabiilsena, kuid kui aparatuur oli vahepeal välja lülitatud, tuli lainepikkust korrigeerida vastavalt peatükis 2.2 kirjeldatule.

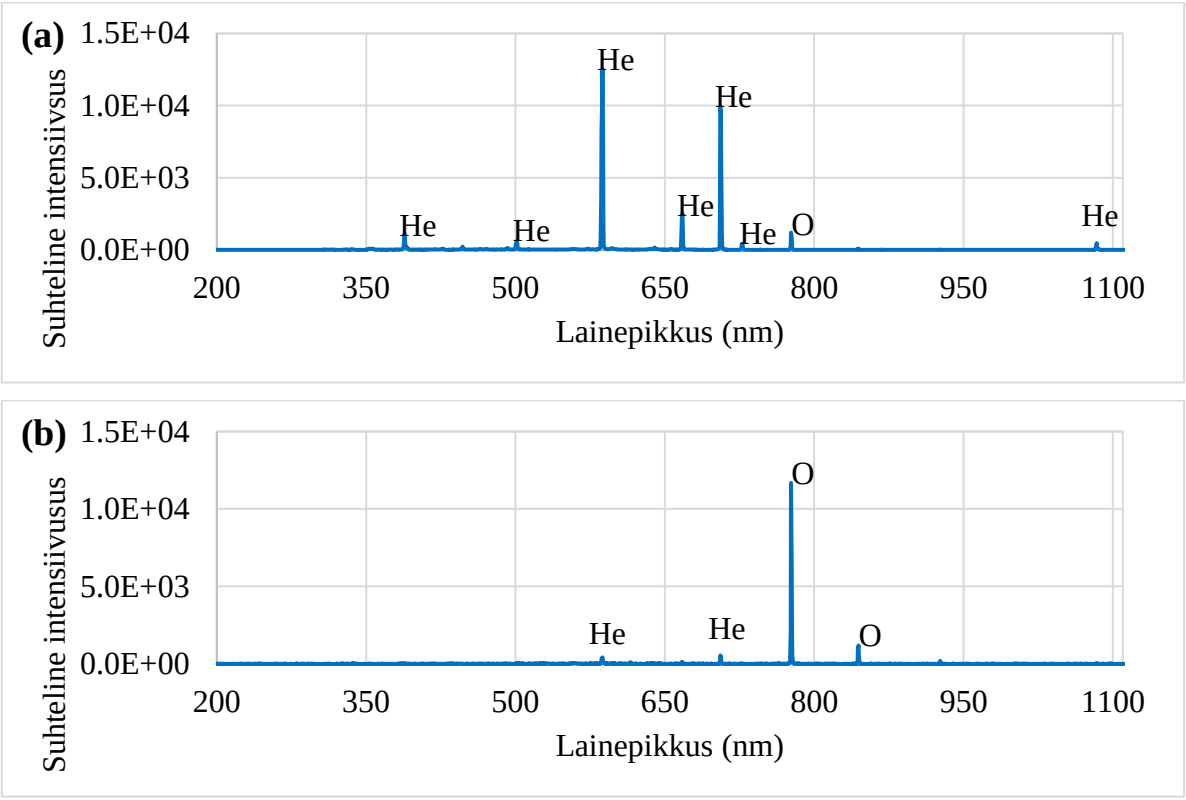
Elektrilistel mõõtmisetel registreeriti igal hapniku kontsentratsioonil kõigepealt pinge ja vool ilma lahenduseta ning seejärel koos lahendusega. Ka nende mõõtmiste puhul oodati pärast gaasisegu muutmist, kuni plasma stabiliseerus, enne kui hakati andmeid koguma.

3. Tulemused ja analüüs

3.1 Kiirgusspektrid

Joonisel 3.1 on esitatud spektromeetriga HR2000 mõõdetud spektrid heeliumi ja heelium-hapniku plasmast. Heeliumi plasma korral on spektris valdavalt nähtavad heeliumi jooned (joonis 3.1 (a)). Kõige intensiivsemad on tripletse heeliumi jooned lainepikkustel 587.5 nm ja 706.5 nm. Nõrgemad tripletse jooned paiknevad lainepikkustel 388.9 nm ja 1083 nm. Singletse heeliumi jooned ilmnevad lainepikkustel 501.5 nm, 667.8 nm ja 728 nm. Heeliumi spektris esineb ka hapniku joon lainepikkusel 777.2 nm. Selle olemasolu on tõenäoliselt tingitud hapniku lekkest gaasitraktis.

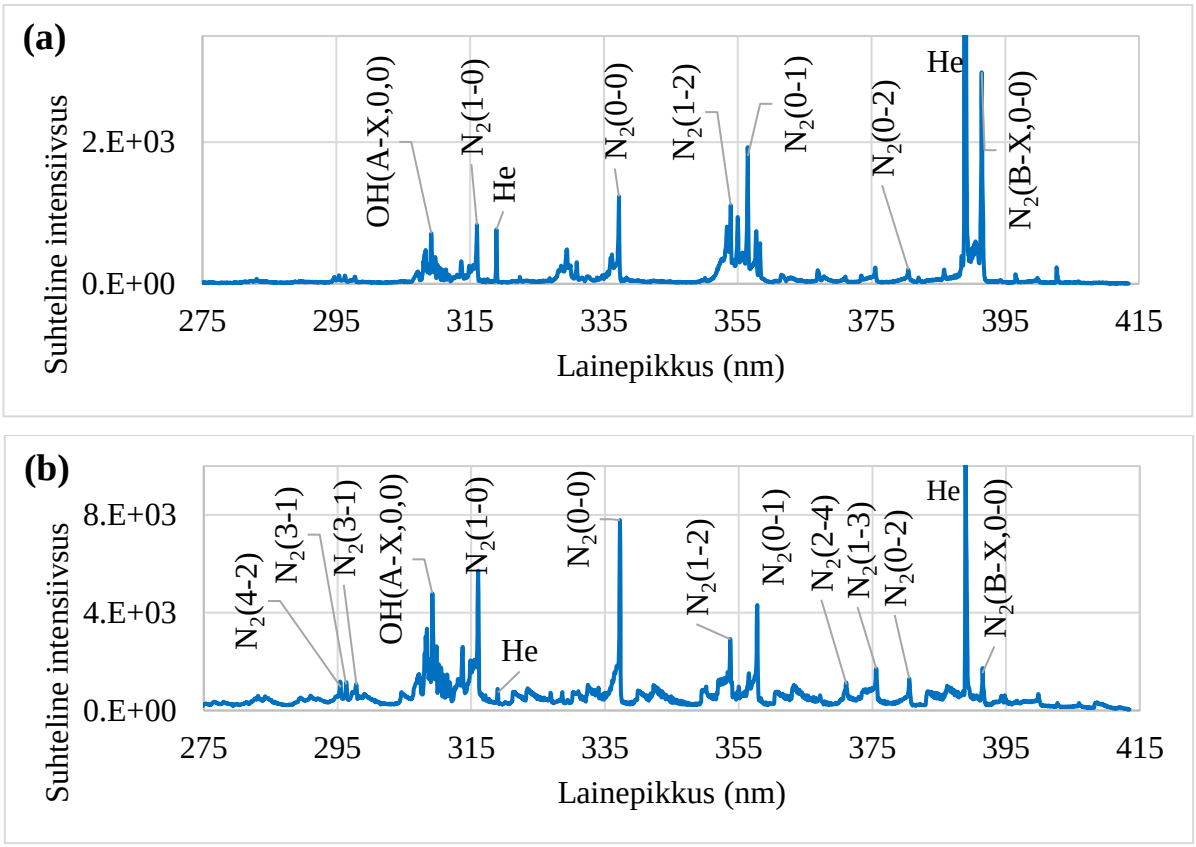
Hapniku lisamisel plasmasse vähenesid kõikide heeliumi joonte intensiivsused (joonis 3.1 (b)). Selgelt nähtavaks jäid ainult kaks tugevamat tripletse joont. Samal ajal muutusid domineerivaks hapniku jooned lainepikkustel 777.2 nm ja 844.6 nm.



Joonis 3.1 He (a) ja He/0.1% O_2 (b) plasma spektrid. Spektrid registreeriti spektromeetriga HR2000.

Kuna spektromeetri HR2000 spektraalne tundlikkus ultravioletses piirkonnas on madal, mõõdeti selles piirkonnas spektrid spektromeetriga HR4Pro. Spektromeetri HR4Pro suurem

lahutusvõime võimaldas paremat spektraalset eraldusvõimet. Heeliumi ja heelium-hapniku segu plasma spektrid on esitatud joonisel 3.2.



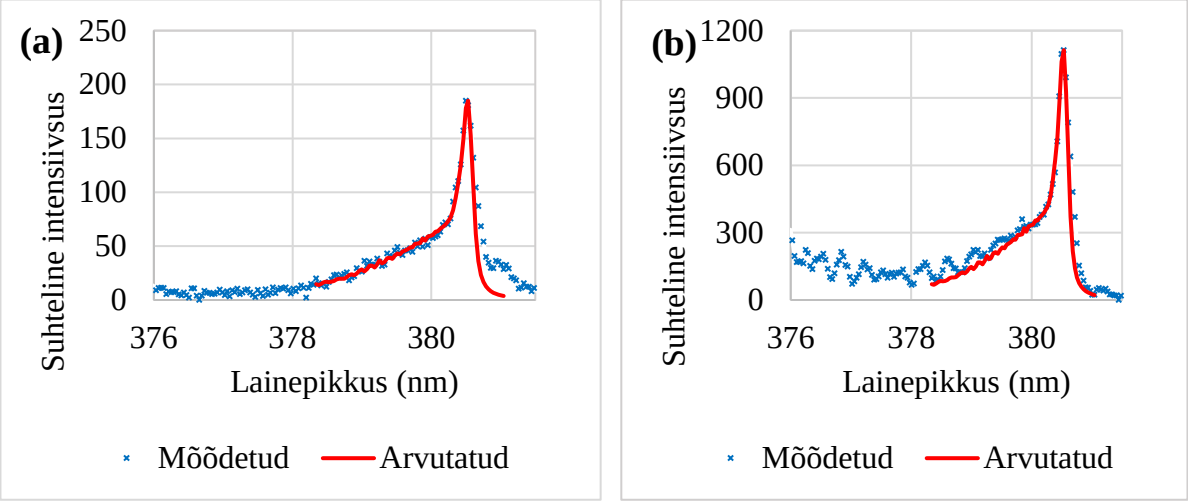
Joonis 3.2 He (a) ja He/0.1% O_2 (b) plasma spektrid. Spektrid registreeriti spektromeetriga HR4Pro.

Spektritelt on näha nõrka tripletse heeliumi joon lainepikkusel 318,8 nm ning tugevam joon 388,9 nm, mille ülemine osa jääb väljapoole mõõtepiirkonda. Molekulaarsetest ribadest on spektrites kõige intensiivsemad neutraalse lämmastiku elektroonsete üleminekute C-B ribad. Samuti on ka näha lämmastiku iooni B-X ülemineku riba. Lisaks on spektril selgelt nähtav OH(A–X) ülemineku riba lainepikkuse piirkonnas 308 nm. OH riba tekkimine on seotud veeauru dissotsiatsiooniga plasmas. Lämmastiku (N_2) esinemine spektris viitab tõenäoliselt gaasi lekkimisele väliskeskkonnast, samas kui veeaur võis pärineda Petri tassis olevast destilleeritud veest.

3.2 Gaasi temperatuur

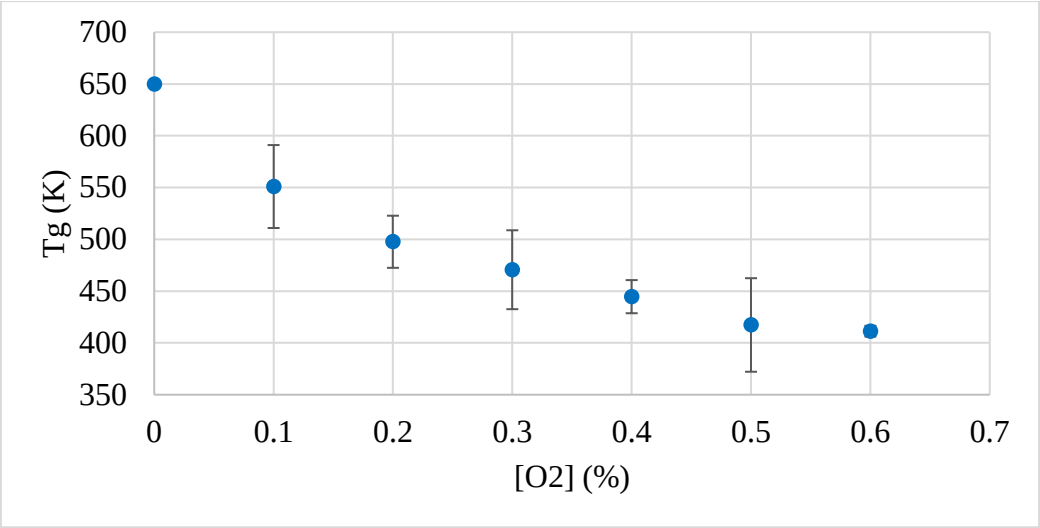
Gaasi temperatuur oli oluline parameeter heeliumi neeldumisjoonte profiilide analüüsimisel. Temperatuur määrati lämmastiku molekuli (N_2) pöörlemisspektri alusel. Meetod tugineb eeldusel, et molekulide pöörlemisseisundite populatsioon järgib Boltzmanni jaotust, mille kuju sõltub otseselt gaasi temperatuurist. Registreerides pöörlemisspektri ja lähendades seda

arvutusliku spektriga, mille vabaks parameetriks on temperatuur, saab leida gaasi temperatuuri. Käesolevas töös määrati temperatuur N_2(C-B, 0-2) spektririba alusel, kuna see N_2 riba kattus kõige vähem teiste molekulaarsete ribadega. Arvutusliku spektri leidmiseks kasutati plasmafüüsika laboris loodud programmi, mille autor on Märt Aints. Mõõdetud ja arvutatud spektri näited on toodud joonisel 3.3.



Joonis 3.3 He (a) ja He/0.1% O_2 (b) plasma N_2(C-B, 0-2) ülemineku mõõdetud ja arvutatud spektrid. Spektrid registreeriti spektromeetrigaHR4Pro.

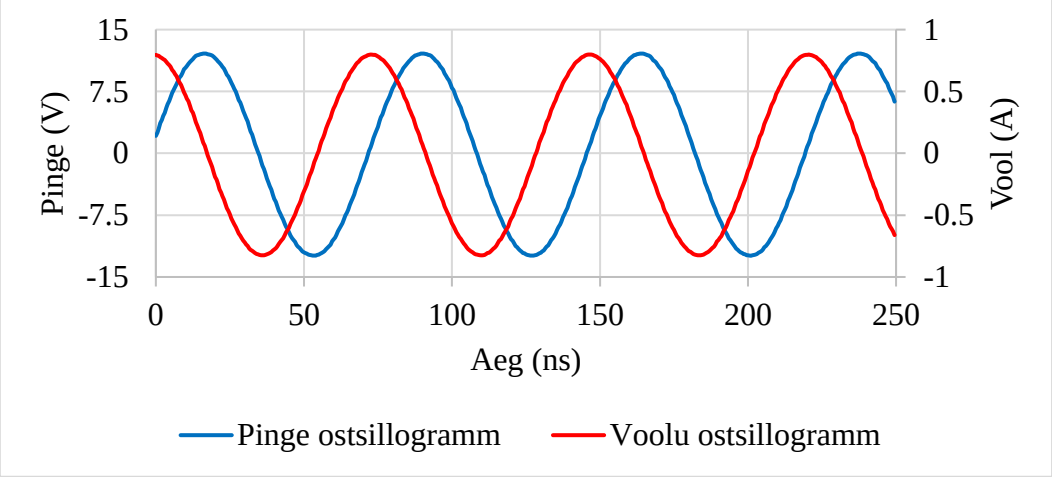
Heeliumi plasma korral on mõõdetud spektriandmetel näha, et maksimumist paremal küljel esineb lokaalne intensiivsuse maksimum, kuigi arvutatud spektri järgi peaks selles piirkonnas intensiivsus olema nullilähedane. See viitab sellele, et lisaks lämmastikule ja hapnikule on spektris tõenäoliselt veel mõne tundmatu molekuli pöörlemisspektri komponent. Sarnane kõrvalekalle on nähtav ka He/0.1% O_2 segu spektris (joonis 3.3 (b)), kuid sel juhul ilmneb kõrvalmõju maksimumist vasakul. Erinevatel hapniku kontsentratsioonidel määratud temperatuurid on esitatud joonisel 3.4. Lisaks on joonisel näidatud ka temperatuuride A-tüüpi määramatused (95% usaldusnivool). Heeliumi plasma puhul tehti vaid üks temperatuurimäärang, mistõttu selles punktis määramatust ei hinnatud.



Joonis 3.4 Gaasi temperatuuri sõltuvus hapniku kontsentratsioonist.

3.3 Elektrilised parameetrid

Temperatuuri määrangute kaudseks kontrolliks viidi läbi ka elektrilised mõõtmised ning määrati plasmasse antavad võimsused. Leitud võimsused peaksid olema kooskõlas määratud temperatuuridega, arvestades, et plasma ruumala ei muutunud hapniku kontsentratsiooni muutmisel märkimisväärselt. Pinge ja voolutugevuse ostsillogrammid olid lahendusega ja lahenduseta olukordades väga sarnased. Näide mõõdetud ostsillogrammidest He/0.1 % O_2 plasma korral on esitatud joonisel 3.5.



Joonis 3.5 Pinge ja voolu ostsillogrammid lahendusega olukorras, kui hapniku kontsentratsioon oli 0,1%.

Võimsuse määramine viidi läbi kahes etapis. Esmalt arvutati faasinihke parandus, mis tulenes mõõtesüsteemis kasutatud erineva pikkusega kaablitest ja muudest tehnilistest teguritest.

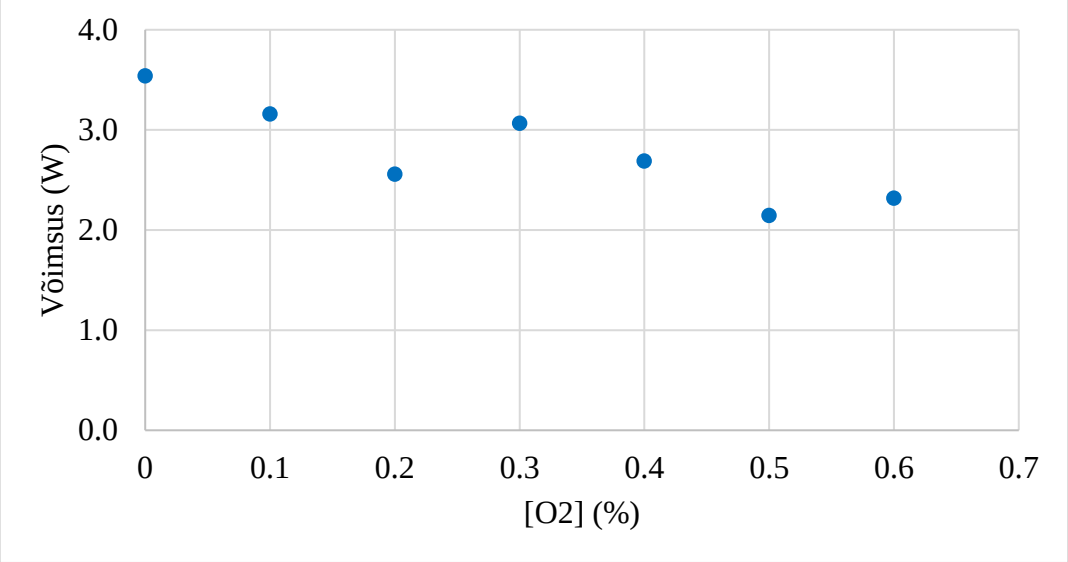
Lahenduseta olukorras peaks süsteem käituma puhtmahtuvusliku takistusena, mistõttu peaks pinge ja voolu faasivahe olema teoreetiliselt $\pi/2$. Praktikas see aga ei kehtinud. Seetõttu arvutati lahenduseta olukorra põhjal faasinihke parandus valemi (3.1) abil, kus I ja U on vastavalt voolu ja pinge efektiivväärtused:

$$\cos\varphi = \frac{P}{U \cdot I} = \frac{\frac{1}{T}\int_0^T i(t)u(t)dt}{\sqrt{\frac{1}{T}\int_0^T [i(t)]^2 dt}\sqrt{\frac{1}{T}\int_0^T [u(t)]^2 dt}} \tag{3.1}$$

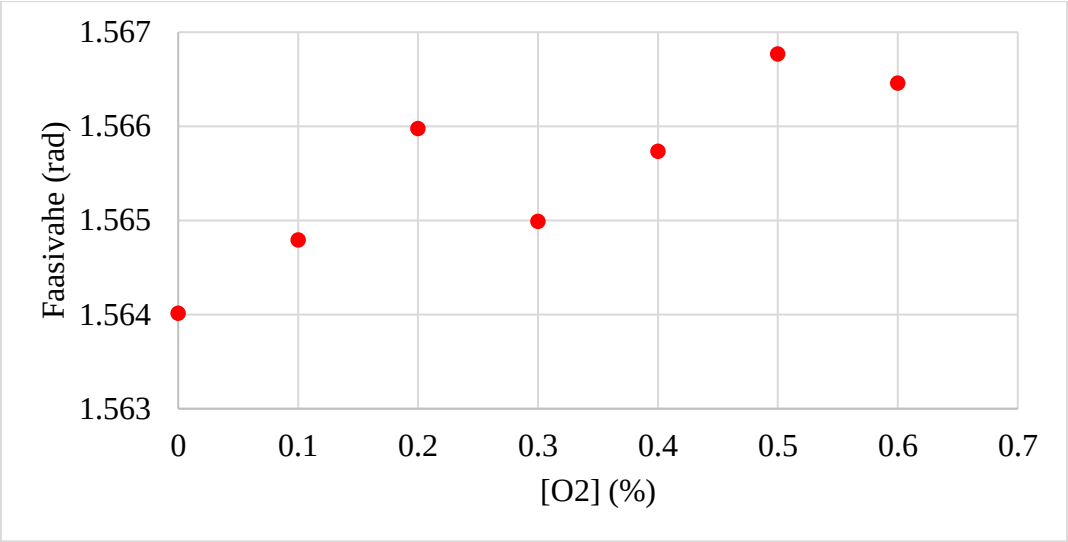
Parandus leiti korrigeerides pinge ja voolu vahelist faasinihet selliselt, et lahenduseta olukorras oleks arvutatud võimsus nullilähedane, nagu eeldatakse puhtmahtuvusliku takistuse korral. Seejärel rakendati sama faasinihke parandus lahendusega mõõdetud ostsillogrammidele ning arvutati plasmasse antav võimsus valemiga:

$$P = \frac{1}{T}\int_0^T i(t)u(t)dt \tag{3.2}$$

Erinevate hapniku kontsentratsioonide korral leitud võimsuste ja faasivahede tulemused on esitatud joonistel 3.6 ja 3.7. Tulemused näitavad, et hapniku lisamisel vähenes plasmasse antav võimsus. Heeliumi plasma korral tuli võimsuseks 3.5 W ning heeliumi ja 0.6 % hapniku segu korral tuli võimsuseks 2.3 W. Samal ajal suurenes faasinihe koos hapniku kontsentratsiooni kasvuga. Kuigi antud meetodi määramatus võib olla märkimisväärne, on siiski selgelt näha, et plasmasse antav võimsus väheneb sarnaselt pöörlemisspektri põhjal määratud gaasi temperatuuriga (joonis 3.4).



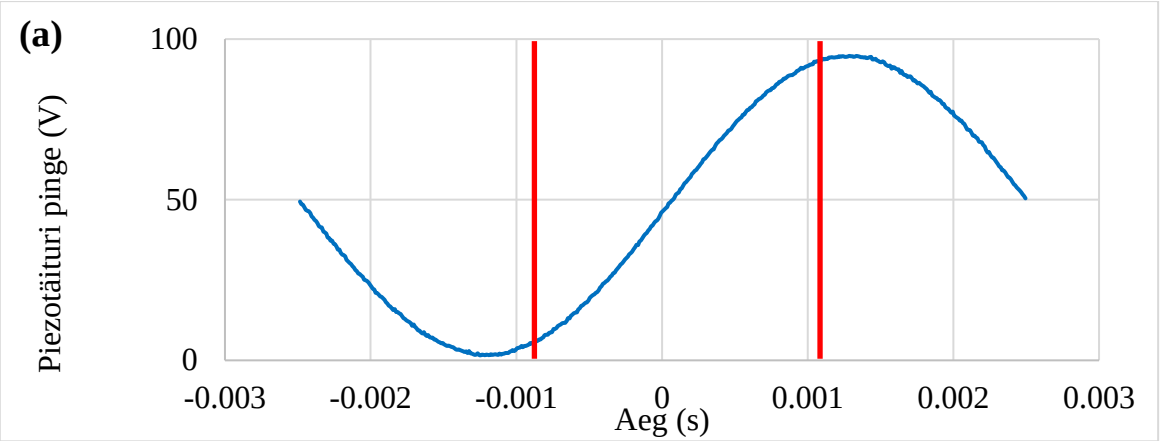
Joonis 3.6 Plasmasse antava võimsuse sõltuvus hapniku kontsentratsioonist.

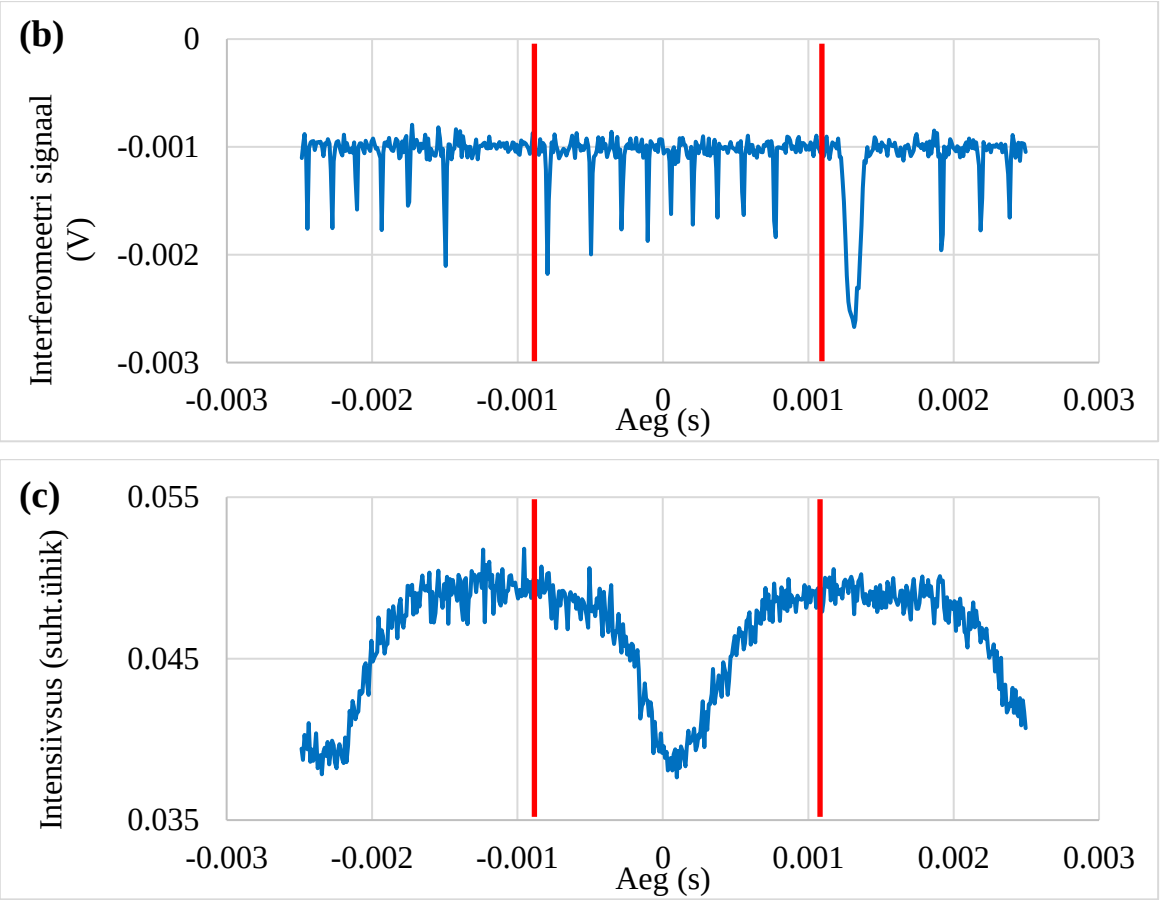


Joonis 3.7 Pinge ja voolu faasivahe sõltuvus hapniku kontsentratsioonist.

3.4 Metastabiilses seisundis He 2^3S olevate aatomite kontsentratsioon

Heeliumi metastabiilsete aatomite kontsentratsiooni hindamine viidi läbi neeldumisspektri põhjal. Selleks registreeriti ostsillogrammid, mis kajastasid piezotäituri juhtimiseks rakendatud pinget, interferomeetri signaali ning muudetava lainepikkusega laseri intensiivsust. Joonisel 3.8 on esitatud vastavad ostsillogrammid heeliumi plasma korral.





Joonis 3.8 Piezotäituri (a), interferomeetri (b) ning detektori (c) ostsillogrammid. Punaste joontega on tähistatud piirkond, mida kasutati edasises andmeanalüüsis.

Andmete analüüsimisel tuleb valida sobiv ajavahemik, mille jooksul piezotäituri pinge muutub kas kasvavas või kahanevas suunas ega sisalda ekstreemumpunkte. Joonisel 3.8 on analüüsiks valitud piirkond tähistatud punaste joontega.

Esimeseks sammuks oli ajaskaala teisendamine lainepikkuste skaalale. Selleks kasutati Fabry-Perot interferomeetri ja piezotäituri signaale (joonis 3.8 (a, b)). Ühemoodilise laserikiire puhul peavad pärast lainepikkuste skaalale teisendamist Fabry-Perot interferentsijoonte vahekaugused olema võrdsed ning vastama kindlale väärtusele. Joonte keskmise vahekauguse $\Delta\lambda$ saab leida valemiga:

$$\Delta\lambda = \lambda_0^2 \frac{\mathrm{FSR}}{c} \tag{3.3}$$

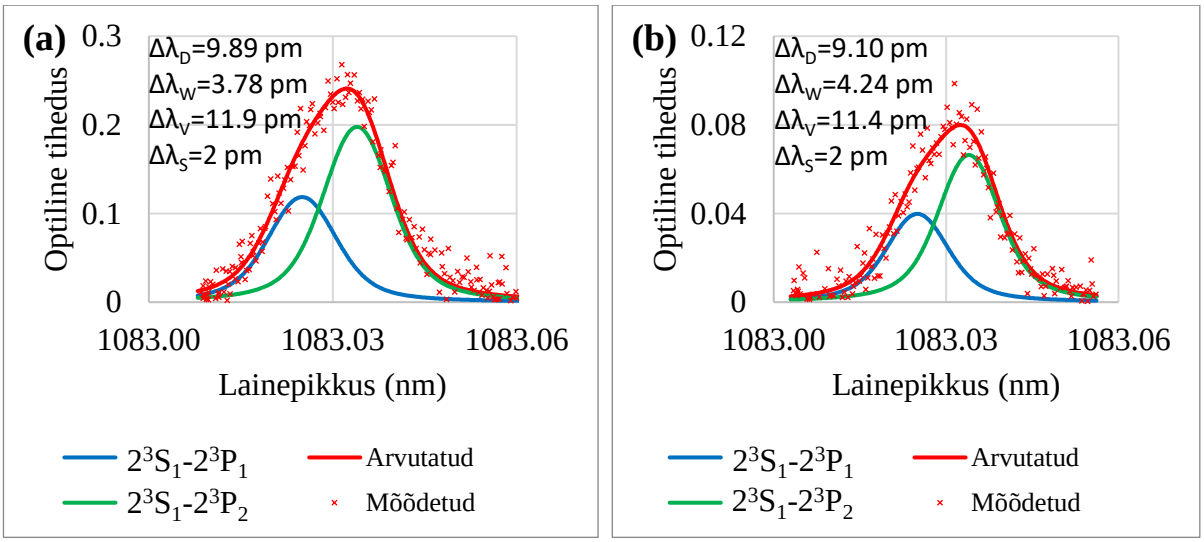
kus λ_0 on laseri lainepikkus, FSR (*Free Spectral Range*) on Fabry-Perot interferomeetrit iseloomustav suurus ning c on valguse kiirus. Antud töös kasutati $\lambda_0 = 1083.03$ nm ja FSR $=$ 1.5 GHz, millest arvutatud $\Delta\lambda = 5.869$ pm.

Kui me asendame Fabry–Perot signaali x-teljele kantud suuruse piesotäituri pingega, siis muutuvad joonte vahekaugused ühtlaseks. Ajaskaala teisendamiseks lainepikkuste skaalale tuleb x-telje andmed ehk piesotäituri pinged korrutada kordajaga, mille tulemusel on Fabry–Perot joonte keskmine kaugus võrdne $\Delta\lambda$-ga. Teisenduse korrektsust kontrolliti madalarõhulise heeliumi huumahenduse korral, kus olid selgesti eristatavad kaks lähestikku asuvat heeliumi neeldumisjoont: $\lambda_1 = 1083.025011$ nm ja $\lambda_2 = 1083.033978$ nm (joonte lainepikkuste vahe 8.967 pm, vt joonis 1.2)

Järgmisena arvutati fotodetektori signaali alusel optiline tihedus, kasutades valemit (1.15). Selleks määrati esmalt neeldumisjoonte λ_1 ja λ_2 rõhulaienemise ja Doppleri laienemise poollaiused vastavalt valemitele (1.7) ja (1.11). Kontrolliks arvutati Van der Waalsi interaktsioonidest tingitud poollaius ka artiklites [19] ja [20] toodud valemite põhjal. Tulemused ei erinenud oluliselt valemiga (1.7) saadud väärtustest.

Suurima panuse spektrijoonte laienemisse andis kõigis mõõtepunktides Doppleri efekt. Doppleri laienemise poollaius vähenes hapniku kontsentratsiooni suurenemisel: heeliumi plasma korral oli selle väärtus 9.89 pm ning He/0.6% O_2 plasma korral 7.86 pm. See on kooskõlas asjaoluga, et Doppleri laienemine sõltub temperatuurist ning temperatuur hapniku lisamisel vähenes. Van der Waalsi laienemise poollaius seevastu suurenes koos hapniku kontsentratsiooniga: heeliumi plasma korral oli selle väärtus 3.78 pm ning He/0.6% O_2 plasma korral 5.20 pm. Selle põhjuseks on asjaolu, et Van der Waalsi laienemine on võrdeline gaasi tihedusega. Temperatuuri languse korral tihedus kasvab, suurendades vastavalt ka rõhulaienemise mõju.

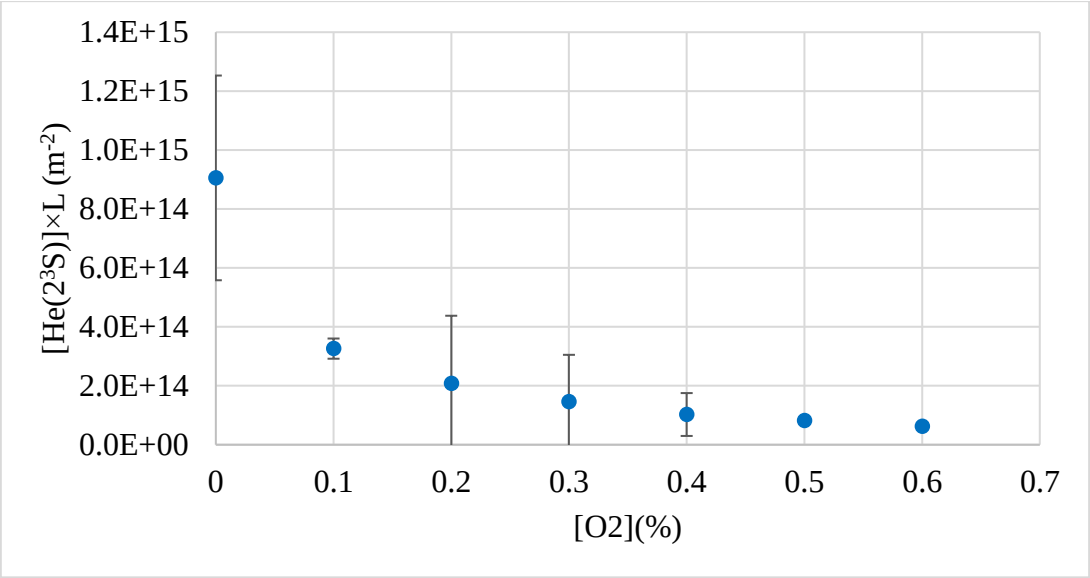
Järgnevalt arvutati Lorentzi ja Doppleri profiilid vastavalt valemitele (1.3) ja (1.5), ning nende põhjal Voigti profiil valemi (1.12) alusel mõlema spektrijoone λ_1 ja λ_2 jaoks. Tabel 1 andmetel on spektrijoone λ_1 ülemise seisundi statistiline kaal 3 ning joone λ_2 puhul 5. Seetõttu korrigeeriti λ_1 optilise tiheduse profiili kordajaga $3/5$, et arvestada vastavate üleminekute suhtelist intensiivsust. Lõpuks summeeriti korrigeeritud λ_1 ja λ_2 profiilid ning võrreldi saadud spektrit eksperimentaalsete andmetega. Arvestades Doppleri ja Van der Waalsi laienemise mehhanisme, saavutati rahuldav kooskõla arvutatud ja mõõdetud spektri vahel juhtudel, kui hapniku kontsentratsioon plasmas ületas 0,1%.



Joonis 3.9 Mõõdetud ja arvutatud optilised tihedused He (a) ja He/0.1% O_2 (b) plasma korral.

Heeliumi ja He/0.1% O_2 plasma korral ei võimaldanud Doppleri ja Van der Waalsi laienemised mõõdetud ja arvutatud profiilide sobitamist. Mõõdetud spektrijooned olid laiemad kui kahe eelmainitud mehhanismiga arvutatud Voigti profiilide summa, mis viitab täiendava laienemismehhanismi olemasolule. Tõenäoliseks täiendavaks mehhanismiks on Starki laienemine, millega arvestamisel saadi arvutusliku ja eksperimentaalse spektri rahuldav kokkulangevus eeldusel, et Starki laienemiselaius on 2 pm (vt joonis 3.9). Tabelandmete põhjal, mis kirjeldavad Starki laienemise sõltuvust elektronide kontsentratsioonist [13], on elektronide kontsentratsioon heeliumi ja He/0.1% O_2 plasmas ligikaudu $2 \cdot 10^{15}$ cm^{-3}.

Nüüd oli võimalik hinnata heeliumi metastabiilses 2^3S olekus olevate aatomite joontihedusi, kasutades valemit (1.15), kus integreerimine viidi läbi Voigti profiili alusel joonte λ_1 ja λ_2 jaoks. Kuna plasmasamba läbimõõtu (s.t neeldumistee pikkust) antud töös ei määratud, siis on saadud tulemused esitatud kontsentratsioonide asemel joontihedustena. Joonisel 3.10 on kujutatud heeliumi 2^3S seisundis olevate aatomite joontiheduste sõltuvus hapniku kontsentratsioonist. Tulemuste juurde on lisatud määramatus, millele anti A-tüüpi hinnang 95% usaldusnivool. Hapniku kontsentratsioonide 0,5% ja 0,6% korral määramatust ei hinnatud, kuna nendel juhtudel kordusmõõtmisi ei tehtud.



Joonis 3.10 Heeliumi metastabiilses 2^3S olekus olevate aatomite joontiheduse sõltuvus hapniku kontsentratsioonist.

Juhul, kui neeldumisteepikkus on 1 mm (plasma täidab toru), on metastabiilses seisundis olevate heeliumi aatomite kontsentratsioon heelium plasmas $9 \cdot 10^{17}$ m^{-3} ja 0.6% hapniku lisand vähendab kontsentratsiooni $6 \cdot 10^{16}$ m^{-3}-ni. Sarnane vähenemistrend hapniku sisalduse kasvades on täheldatud ka atmosfäärirõhul töötava plasma He/O2 plasmade puhul [11].

4. Kokkuvõte

Antud töö eesmärk oli määrata metastabiilses seisundis olevate heeliumi aatomite (He 2^3S) kontsentratsioon He/O_2 raadiosageduslikus plasmas. Selleks kasutati tüüritava lainepikkusega laserit Thorlabs TLK-L1050M, koostati ja justeeriti optiline süsteem neeldumisspektroskoopia mõõtmiste jaoks ning registreeriti He 2^3S-2^3P ülemineku neeldumisspektrid He/O_2 plasmas. Katsed viidi läbi õhust isoleeritud gaasikeskkonnas rõhul 200 Torr. Heeliumi gaasivoog oli 400 sccm ja hapniku vookiirust varieeriti vahemikus 0,0–2,4 sccm (0–0,6%). Generaatori väljundvõimsus oli kõigis katsetes 75 W.

Töö olulisemad tulemused:

- Spektraalsed mõõtmised näitasid, et heeliumi plasmas oli kõige intensiivsemad tripletse heeliumi jooned. Ühtlasi esines spektris nõrga intensiivsusega N_2, OH ribasid ja O jooni, mis tekkisid tõenäoliselt vaakumsüsteemi väikeste lekkete tõttu.
- Mõõdetud spektrite põhjal arvutati N_2(C-B, 0-2) ülemineku pöörlemistemperatuur, mis loeti võrdseks plasma gaasi temperatuuriga. Temperatuur vähenes koos hapniku sisalduse suurenemisega vahemikus 650 K kuni 411 K.
- Elektriliste mõõtmiste alusel hinnati plasmasse antud võimsus, mis samuti vähenes hapniku kontsentratsiooni suurenedes, olles vahemikus 3.5 W kuni 2.1 W.
- Heeliumi metastabiilsete aatomite kontsentratsioonid määrati neeldumisspektrite alusel. Metastabiilide kontsentratsioon vähenes hapniku sisalduse suurenemisega. Eeldades neeldumistee pikkust 1 mm, oli metastabiilide kontsentratsioon heeliumi plasmas $9 \cdot 10^{17}$ m^{-3} ning hapniku lisand 0.6 % plasma korral $6 \cdot 10^{16}$ m^{-3}.
- Spektrijoonte analüüsist selgus, et elektronide kontsentratsioon langeb hapniku sisalduse suurenemisega, millele viitab Starki laienemise vähenemine koos hapniku sisalduse kasvuga.

Kirjandus

[1] B. Wang *et al.*, “Plasma-fixed Nitrogen Improves Lettuce Field Holding Potential,” *Horttechnology*, vol. 34, no. 2, pp. 187–189, 2024, doi: 10.21273/HORTTECH05369-23.

[2] Y. Yin *et al.*, “Recent Progress in Applications of Atmospheric Pressure Plasma for Water Organic Contaminants’ Degradation,” *Appl. Sci.*, vol. 13, no. 23, 2023, doi: 10.3390/app132312631.

[3] M. Benčina, M. Resnik, P. Starič, and I. Junkar, “Use of plasma technologies for antibacterial surface properties of metals,” *Molecules*, vol. 26, no. 5, 2021, doi: 10.3390/molecules26051418.

[4] J. R. Carl-Thomas Piller and Raud, Lauri Aarik, Indrek Jõgi, Rasmus Talviste, Jaan Aarik, “Study of Mid-Pressure Ar Radiofrequency Plasma Used in Plasma-Enhanced Atomic Layer Deposition of α-Al2O3,” *Processes*, vol. 12, no. 3, 2024.

[5] A. C. Borges *et al.*, “Applications of cold atmospheric pressure plasma in dentistry,” *Appl. Sci.*, vol. 11, no. 5, pp. 1–15, 2021, doi: 10.3390/app11051975.

[6] S. Bekeschus, T. von Woedtke, S. Emmert, and A. Schmidt, “Medical gas plasma-stimulated wound healing: Evidence and mechanisms: Mechanisms of gas plasma-assisted wound healing,” *Redox Biol.*, vol. 46, no. August, p. 102116, 2021, doi: 10.1016/j.redox.2021.102116.

[7] H. Tanaka *et al.*, “Plasma-Treated Solutions (PTS) in Cancer Therapy,” pp. 1–19, 2021.

[8] T. Shirai, J. Reader, A. E. Kramida, J. Sugar, and NIST ASD Team, “{NIST} {Atomic} {Spectra} {Database} (ver.~5.0),” Mem. S.A.It. Suppl. Accessed: May 27, 2025. [Online]. Available: https://physics.nist.gov/asd

[9] K. N. Joshipura, B. K. Antony, and M. Vinodkumar, “Electron scattering and ionization of ozone, O2 and O4 molecules,” *J. Phys. B At. Mol. Opt. Phys.*, vol. 35, no. 20, pp. 4211–4221, 2002, doi: 10.1088/0953-4075/35/20/308.

[10] Y. Jiang, Y. Wang, S. Cong, J. Zhang, and D. Wang, “Effects of nitrogen impurity on the atmospheric pressure helium plasma jets exposed to a nitrogen environment,” *Phys. Plasmas*, vol. 27, no. 10, 2020, doi: 10.1063/5.0020468.

[11] K. Niemi, J. Waskoenig, N. Sadeghi, T. Gans, and D. O'Connell, "The role of helium metastable states in radio-frequency driven helium-oxygen atmospheric pressure plasma jets: Measurement and numerical simulation," *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 20, no. 5, 2011, doi: 10.1088/0963-0252/20/5/055005.

[12] C. Yubero, A. Rodero, M. S. Dimitrijevic, A. Gamero, and M. C. García, "Gas temperature determination in an argon non-thermal plasma at atmospheric pressure from broadenings of atomic emission lines," *Spectrochim. Acta - Part B At. Spectrosc.*, vol. 129, pp. 14–20, 2017, doi: 10.1016/j.sab.2017.01.002.

[13] M. S. Dimitrijevic and S. Sahal-Bréchot, "Stark broadening of neutral helium lines," *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf.*, vol. 31, no. 4, pp. 301–313, 1984.

[14] L. Invernizzi, N. Sadeghi, F. P. Sainct, and P. Guillot, "Study of He + 0.2% O2plasma jet impinging on liquid surface from He(23S1) metastable atoms density measurements," *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 31, no. 3, 2022, doi: 10.1088/1361-6595/ac4e21.

[15] C. S. Goldenstein, R. M. Spearrin, J. B. Jeffries, and R. K. Hanson, "Infrared laser-absorption sensing for combustion gases," *Prog. Energy Combust. Sci.*, vol. 60, pp. 132–176, 2017, doi: 10.1016/j.pecs.2016.12.002.

[16] N. Miura and J. Hopwood, "Spatially resolved argon microplasma diagnostics by diode laser absorption," *J. Appl. Phys.*, vol. 109, no. 1, pp. 0–6, 2011, doi: 10.1063/1.3531557.

[17] J. Muñoz, M. S. Dimitrijević, C. Yubero, and M. D. Calzada, "Using the van der Waals broadening of spectral atomic lines to measure the gas temperature of an argon-helium microwave plasma at atmospheric pressure," *Spectrochim. Acta - Part B At. Spectrosc.*, vol. 64, no. 2, pp. 167–172, 2009, doi: 10.1016/j.sab.2008.11.006.

[18] M. A. Gigosos, S. Djurović, I. Savić, D. González-Herrero, Z. Mijatović, and R. Kobilarov, "Stark broadening of lines from transition between states n = 3 to n = 2 in neutral helium: An experimental and computer-simulation study," *Astron. Astrophys.*, vol. 561, pp. 1–13, 2014, doi: 10.1051/0004-6361/201322866.

[19] N. Sadeghi, "Broadening of He 1083nm, 388.8 nm, 501.6 nm, 587.5 nm, 667.8 nm, 706.5 nm, 728.1 nm lines and of H(α), H(β) and O 777 nm lines in atmospheric pressure helium," *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf.*, vol. 315, no. September 2023, p. 108868, 2024, doi: 10.1016/j.jqsrt.2023.108868.

[20] N. Sadeghi, R. Magnan, and F. Massines, “Pressure broadening of 772.376 and 772.421 nm argon lines and kinetics of argon metastable atoms,” *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf.*, vol. 288, 2022, doi: 10.1016/j.jqsrt.2022.108264.

Lisad

Lisa 1. Artikkel

Received: 31 March 2023 | Revised: 20 June 2023 | Accepted: 23 June 2023

DOI: 10.1002/ppap.202300068

RESEARCH ARTICLE

PLASMA PROCESSES AND POLYMERS

The production of reactive chlorine species (RCS) by argon and helium plasma jets and the sensitivity of liver cancer cell HepG2 to RCS and H_2O_2 treatment

Sirli Raud[1] | **Jüri Raud**[2] | **Lauri Aarik**[2] | **Indrek Jõgi**[2] | **Markus Kivimäe**[2] | **Carl-Thomas Piller**[2] | **Mario Plaas**[1] | **Toomas Plank**[2] | **Rasmus Talviste**[2] | **Tambet Teesalu**[1,3] | **Eero Vasar**[1]

[1]Institute of Biomedicine and Translational Medicine, University of Tartu, Tartu, Estonia

[2]Institute of Physics, University of Tartu, Tartu, Estonia

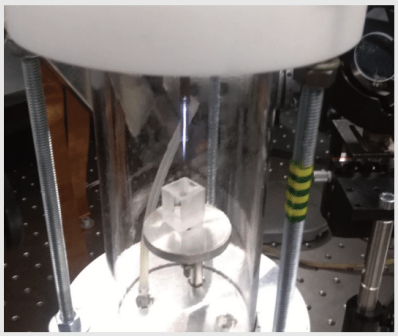
[3]Materials Research Laboratory, University of California, Santa Barbara, California, USA

Correspondence
Sirli Raud, Institute of Biomedicine and Translational Medicine, University of Tartu, Ravila str. 19, 50411, Tartu, Estonia.
Email: Sirli.Raud@ut.ee

Funding information
Estonian Research Council, Grant/Award Numbers: PUT1432, PSG448, PRG230, PRG1788, EAG79; Euronanomed II projects ECM-CART and iNanoGun and COST Action CA20114 PlasTher, supported by COST (European Cooperation in Science and Technology)

Abstract

The present study investigated the production of reactive chlorine species (RCS) by Ar/O_2 and He/O_2 radiofrequency plasma jets in saline solution, and the sensitivity of the liver cancer cell line HepG2 to RCS and H_2O_2. Both plasma jets were able to produce RCS; however, at similar plasma powers, pressures, and feed gas flow rates, the He/O_2 jet was more efficient for RCS production. The lower RCS yield in the case of the Ar/O_2 plasma jet was mainly due to the higher RCS quenching. At a low production rate, RCS can be produced in the open air. Viability tests showed that HepG2 cells were more sensitive to H_2O_2 than RCS.



KEYWORDS
cell culture, free radicals, plasma jet, reactive chlorine species, UV–vis spectroscopy

1 | INTRODUCTION

Plasma is a clean source of various reactive species that can be used in various applications including medicine. For example, plasma-produced reactive species have been shown to be beneficial in wound healing, dentistry, and potentially cancer therapy.[1–4] In cancer studies, several plasma-produced reactive species such as H_2O_2, NO_2^-, NO_3^-, $ONOO^-$, O_2, O_3, O, OH, HO_2, HOCl, and OCl^- have been considered to have an impact.[3] One of the strategies often used in cancer studies is the plasma treatment of a liquid medium (e.g., cell growth medium,

Abbreviations: CCM, cell culture medium; DMEM, Dulbecco's modified Eagle medium; MEM, Minimum Essential Medium Eagle; PAM, plasma-activated medium; RCS, reactive chlorine species; RF, radiofrequency; RNS, reactive nitrogen species; RONS, reactive oxygen and nitrogen species; ROS, reactive oxygen species; TDLAS, tunable diode laser absorption spectroscopy.

water, saline) and then applying it to cultured cancer cells or injecting it into a tumor.[5] In such a plasma-activated medium (PAM), the range of possible plasma-produced effectors is limited to long-lifetime reactive oxygen and nitrogen species (RONS) such as H_2O_2, NO_2^-, NO_3^-, and O_3. Extensive studies have been conducted to clarify the influence of long-lived reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS) on cancer cells. Among long-lifetime ROS, H_2O_2 has been recognized to have potent anticancer activity while among the RNS listed above, NO_2^- appears to be more important, but only when acting simultaneously with H_2O_2.[6–11]

Compared with RONS, less is known about the impact of long-lifetime reactive chlorine species (RCS), OCl^- and HOCl on cancer cells. Biologically, RCS is produced by neutrophils, which are important cells in the immune system that provide critical protection against pathogens. The endogenous path for RCS production is the reaction between H_2O_2 and Cl^-, and the produced RCS is discharged into the extracellular space surrounding neutrophils.[12] Importantly, biologically produced RCS inhibit tumor growth.[13] Recent experiments using exogenously produced RCS have also shown promising anticancer effects. For example, treatment with HOCl resulted in efficient immunogenic death of B16F10 melanoma cells.[14] In a study with HT-29, Panc-01, and SK-OV-3 human abdominal cancer cell lines and HaCaT keratinocytes treated with H_2O_2, HOCl, and $ONOO^-$, the most potent anticancer effect was observed for HOCl.[15] The detailed mechanism of action of RCS remains an open question; it seems to differ from that of H_2O_2.[15,16] RCS has been found to inhibit the activity of catalase, an enzymatic scavenger of H_2O_2,[17] which is expressed on the surface of many malignant cells but not on non-transformed cells.[18,19] Catalase inactivation by exogenous RCS could boost the generation of extracellular O_2^- (by the NOX1 enzyme), which in reaction with HOCl could result in the generation of cytotoxic OH radicals.[11] Compared to healthy cells, the extracellular pH of cancer cells is lower,[20] which increases the HOCl concentration on account of OCl^-,[21] enhancing OH production selectively in proximity to the cancer cells.

Although RCS has been shown to be a potential anticancer agent that could be important in future plasma-based cancer therapies, it has rarely been used in cancer studies, potentially due to the complexity of RCS production. A large RCS yield has been proposed in a simulation study of chemical reactions,[22] mainly by ozone:

$$O_3 + Cl^- \rightarrow OCl^- + O_2. \quad (1)$$

The more often considered RCS formation path is the reaction between the plasma-produced O atoms and Cl ions in the liquid[16]:

$$O + Cl^- \rightarrow OCl^-. \quad (2)$$

The equilibrium between OCl^- and its molecular form, HOCl, concentrations in the liquid are established by the pH[23]:

$$OCl^- + H^+ \xleftrightarrow{pKa=7.7(at\ 10°C)} HOCl. \quad (3)$$

Following Reactions (1) and (2), the RCS formation requires the plasma source to be an efficient source of O atoms. In addition, it is necessary to avoid the production of NO_2^-, and H_2O_2 which quench RCS,[21] but are often found in PAM:

$$H_2O_2 + OCl^- \rightarrow H_2O + Cl^- + O_2(^1\Delta), \quad (4)$$

$$NO_2^- + HOCl \rightarrow NO_3^- + Cl^- + H^+. \quad (5)$$

A suitable plasma treatment setup is a He/O_2 plasma jet operated in an isolated chamber filled with He/O_2 ambient gas.[21] Plasma treatment of saline must be conducted in the noncontact mode, where the plasma is not in ohmic contact with the liquid.[24] The treatment in the noncontact mode reduces the production of H_2O_2 while controllable ambient gas composition allows the reduction of NO_2^- production. These specific conditions are also occasionally met in experiments conducted in the open air.[14,25,26] Interestingly, RCS production has generally been observed by He/O_2 plasma jets.[14,21,25,27] The inefficiency of the Ar/O_2 plasma jet in RCS production has been explained by the lower atomic oxygen yield and the more intense influx of ambient air.[14]

The aim of the present work was to (1) study RCS production efficiency in Ar/O_2 and He/O_2 plasma jets and (2) evaluate the sensitivity of a human liver tumor, hepatoblastoma HepG2, to treatment with plasma-produced RCS in comparison with H_2O_2. Liver cancer is one of the deadliest cancers worldwide, with hepatoblastoma being the most common liver cancer in children.[28] HepG2 cells are highly resistant to various chemotherapies and radiotherapy.[29] However, the sensitivity of HepG2 cells to RCS and H_2O_2 treatment is still unknown.

2 | MATERIALS AND METHODS

2.1 | Experimental setup

The setup used for PAM production was similar to that used in our previous study (Figure 1).[30]

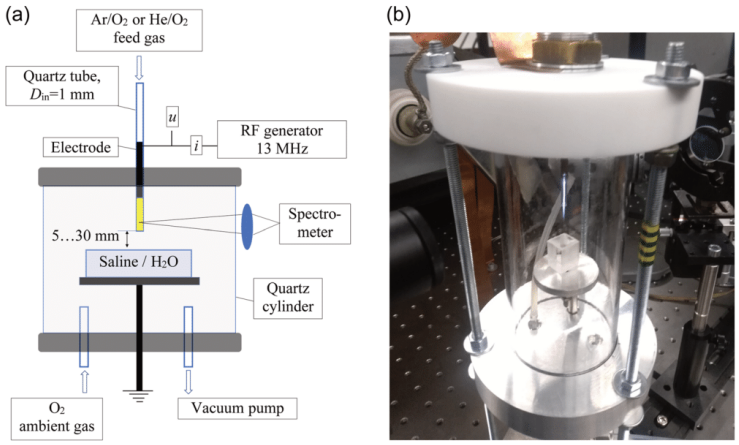


FIGURE 1 Schematic representation of the experimental device used for the plasma treatment of liquid and photo of in situ RONS detection experiment with Ar/0.8% O_2 plasma jet operating at the pressure of 200 Torr and generator power 75 W.

The plasma jet used for PAM production was ignited inside a quartz tube with a Kurt J. Lesker AT6 radiofrequency (RF) power supply at a frequency of 13.6 MHz. The electrode (width: 30 mm) was placed around the quartz tube 10 mm upstream of the tube nozzle. The distance between the surface of the treated liquid and the tube nozzle varied in the range of 5–30 mm. Physiological saline (B. Braun Meisungen AG) or deionized water was used as the liquid. In most experiments, the plasma treatment of the liquid was carried out in a chamber isolated from open air at a pressure of 200 Torr. Ar/O_2 or He/O_2 were used as the feed and ambient gases. The flow rates of the gases were regulated by Alicat Scientific mass flow controllers. The flow rate of ambient O_2 gas directed to the powered electrode was 50 sccm in most experiments, which allowed us to avoid the presence of corona discharge near the sharp edges of the powered electrode. Before the plasma treatment, care was taken to remove air particles from the chamber, feed, and ambient gas tubes, as in the previous study.[30]

At atmospheric pressure, our setup allowed the Ar/O_2 plasma jet to ignite only at a very low O_2 content in the feed gas (≤0.15%), while we were not able to ignite the He plasma jet even in the absence of O_2 because of the high sustaining voltage.

Electrical characteristics were recorded using the oscilloscope TDS-540B. The voltage, u, was measured using a capacitive voltage divider and a 1:100 Tektronix voltage probe, while the current, i, was measured using a McPherson current monitor 6585. Optical emission spectra of the plasma were recorded using Ocean Optics USB4000 (spectral range 185–850 nm, resolution ≈1 nm) and Ocean Insight HR4000 (275–418 nm, resolution ≈0.1 nm) spectrometers. The concentration of Ar metastable $1s_5$ state atoms was estimated using a tunable diode laser absorption spectroscopy (TDLAS) unit Thorlabs TLK-L780M, Fabry–Perot interferometer Thorlabs SA-200, and photodetector Thorlabs APD110A2.

The amount of liquid used in the plasma treatment experiment was 1.3 mL (in situ absorption measurements) or 12.2 mL (PAM preparation for viability tests). The liquid temperature was measured using the infrared thermometer Meterman IR608. The pH of PAM was measured using the pH-meter Vernier pH Sensor (accuracy ±0.2). The concentrations of RONS (NO_2^-, NO_3^-, H_2O_2, and O_3) and RCS in the liquid were determined using the UV absorption spectroscopy method.[24,31] Absorption spectra were recorded by the Ocean Optics USB4000 spectrometer and fitted numerically with synthetic spectra, obtained from a linear combination of O_3, NO_2^-, NO_3^-, and H_2O_2 absorption spectra. Fitting was performed using the MathCad software function *Minerr* which utilizes the Levenberg–Marquardt algorithm. The concentrations of NO_2^-, NO_3^-, and H_2O_2 were determined based on the fitting results and calibration data (absorption as a function of the concentration). The ozone absorption profile was recorded using ozone-treated deionized water and the O_3 concentration was calculated using a molar attenuation coefficient of 5.2 mM^{-1} cm^{-1} at the peak absorbance value.[32] In the case of the plasma treatment of saline, the O_3 concentration was determined using additional

RCS absorption profile in the fitting. The absorption profiles of the RONS and RCS used in the fitting are shown in Figures S3 and S5, respectively. In some experiments, H_2O_2 concentration was estimated using Fluorimetric Hydrogen Peroxide Assay Kit MAK166 (Sigma-Aldrich), and the fluorescence of the samples was measured using EnSight multimode plate reader.

The total RCS concentration, $[RCS] = [OCl^-] + [HOCl]$, was calculated according to formula[21]:

$$[RCS] = \frac{A_{292}}{l \times \varepsilon_{tot}}. \quad (6)$$

Here, A_{292} is the absorption at 292 nm, $l = 10$ mm is the absorption length, $\varepsilon_{tot} = \varepsilon_{HOCl} + \frac{\varepsilon_{OCl^-} - \varepsilon_{HOCl}}{1 + a \times e^{-b(-pKa)}}$, $\varepsilon_{OCl^-} = 365\ M^{-1}\ cm^{-1}$, and $\varepsilon_{HOCl} = 32\ M^{-1}\ cm^{-1}$ are the extinction coefficients of OCl^- and HOCl at 292 nm,[33,34] and $a = 1.89$ and $b = 2.228$ are empirical constants.[21] In the calculation of [RCS], we ignored the absorption of ClO_2^- at 292 nm, which was considered in the original formula, because of its low contribution.[21]

PAM posttreatment analysis was performed approximately one minute after the end of plasma treatment. A commercial H_2O_2 solution (Sigma-Aldrich; 30% wt/wt) was used for viability tests.

2.2 | Cell viability tests

Human melanoma (M21) and liver carcinoma (HepG2) cells were used in viability tests. HepG2 cells were cultured in low-glucose Minimum Essential Medium Eagle (MEM; Capricorn; MEM-STA) and M21 cells in Dulbecco's modified Eagle medium (DMEM; Life Technologies) at 37°C in a humidified incubator containing 5% CO_2. Both MEM and DMEM were supplemented with 10% fetal bovine serum (Gibco; 10270106), 100 U/mL penicillin, and 100 μg/mL streptomycin (Gibco; 15140122). Ten thousand cells per well (200 μL/well) were seeded in 96-well flat-bottomed tissue culture-treated microplates (Falcon), followed by overnight incubation. The medium was replaced with fresh medium (100 μL medium/well), and freshly prepared PAM/H_2O_2/negative control was subsequently added (100 μL/well). PAM was added to the cells within 3 min after the plasma treatment. After incubation in a CO_2 incubator for 48 h, cell viability was studied colorimetrically using the 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay (Sigma-Aldrich), as described in our previous work.[30]

3 | RESULTS AND DISCUSSION

3.1 | Plasma characteristics

The plasma characteristics given in this section were obtained using the following experimental parameters: the distance between the tube nozzle and liquid surface was either 20 mm in the case of the Ar/0.8% O_2 plasma jet or 5 mm in the case of the He/0.8% O_2 plasma jet, the flow rate for the feed gas was 400 sccm, and for ambient O_2 gas 50 sccm, the pressure inside the chamber was 200 Torr, and the generator power was 75 W. These parameters allowed the efficient generation of RCS (see Section 3.2).

The plasma power was calculated using the formula $P = \frac{1}{T}\int_0^T i_p(t)u_p(t)dt$ as described in our previous studies.[35,36] The phase shift component introduced due to different lengths of connecting cables was determined from the measured voltage and current waveforms without discharge using waveforms averaged over 2000 period. At 75 W generator power, the plasma power was 0.7 ± 0.1 W for both Ar/0.8% O_2 and He/0.8% O_2 plasma jets.

In the case of the Ar/0.8% O_2 mixture, the spectral lines correspond to Ar and O[37] (Figure 2a). Among the molecular bands, OH(A-X,0-0) at 308 nm was detectable.

In the spectrum of the He/0.8% O_2 plasma (Figure 2b), the dominant lines belong to O -atoms, while the only He line was detected at 706 nm. At longer spectrometer exposition times, nitrogen second positive system bands were detected in both Ar/0.8% O_2 and He/0.8% O_2 plasma jets.

The gas temperature, T_g, was estimated from the N_2(C-B,0-1) rotational spectrum (Figure 2 insets), as described in our previous studies.[38,39] At a distance of 1 mm downstream from the tube nozzle, the temperature of the Ar/0.8% O_2 plasma jet was $T_g = 750 \pm 50$ K, and that of the He/0.8% O_2 plasma jet was $T_g = 520 \pm 50$ K. Considering the similar plasma power, the lower temperature in the case of He/0.8% O_2 plasma could be explained by the higher thermal conductivity of He.[40]

An important factor in the formation of RCS is the production efficiency of O atoms and one mechanism is the dissociation of O_2 molecules by the impact with metastable state atoms. With increasing O_2 concentration, a rapid decrease in Ar metastable state atoms, Ar ($1s_5$) concentration, was observed: the concentration of Ar($1s_5$) was $\approx 5 \times 10^{11}\ cm^{-3}$ in pure Ar, while the detection limit of the TDLAS system reached at 0.2% O_2, $[Ar(1s_5)] \approx 1 \times 10^{11}\ cm^{-3}$ (Figure S1). With constant

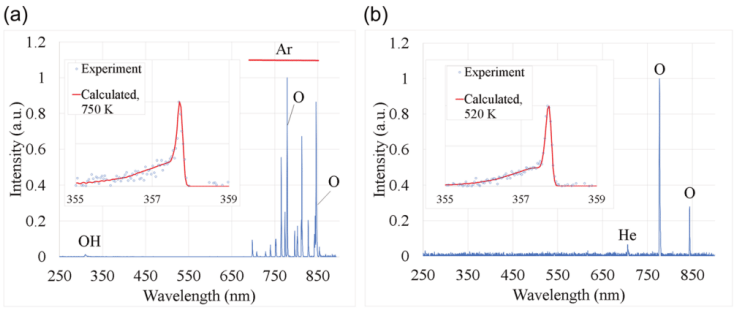


FIGURE 2 Ar/0.8% O_2 (a) and He/0.8% O_2 (b) plasma spectra recorded 1 mm downstream from the tube nozzle. Insets: measured and calculated N_2(C-B,0-1) spectra.

$Ar(1s_5)$ production, the concentration of $Ar(1s_5)$ should be inversely proportional to the O_2 concentration when the impact with O_2 molecules is the main loss channel for metastable atoms. However, the concentration of metastable atoms is also influenced by the electron concentration and energy, which depend on the O_2 content in the plasma gas.[41,42]

3.2 | RCS production efficiency by Ar/O_2 and He/O_2 plasma jets

RCS production presumes plasma treatment of the saline in the noncontact mode. The noncontact mode was more difficult to achieve in the case of the Ar/O_2 plasma jet. The treatment mode depended on several parameters: the distance between the liquid surface and tube nozzle, pressure, feed gas flow rate, O_2 percentage in the feed gas, and input power. For example, at 400 sccm Ar/0.5% O_2 feed gas flow rate and a distance of 10 mm, noncontact mode was achievable only at pressures below 300 Torr. At higher pressures, the plasma-sustaining voltage increased and discharge occurred only in the contact mode. In addition, the increase in feed gas flow rate and input power caused prolongation of the plasma column, leading to the contact mode. The following parameters were chosen to study the RCS production efficiency of the plasma jets: pressure 200 Torr, feed gas flow rate 400 sccm, 0.8% O_2 in the feed gas, and generator power 75 W. In the absence of O_2 in the feed gas, RCS was not produced even at a high (60%) O_2 concentration in the ambient gas.

Under these conditions, the visual length of the Ar/0.8% O_2 plasma jet was greater than that of the He/0.8% O_2 plasma jet. The optimal distance between the liquid surface and the tube nozzle, d_{opt}, for RCS production was determined in the range $d_{opt} = 5–30$ mm. For the He/0.8% O_2 plasma jet, the highest RCS yield was obtained at $d_{opt} = 5$ mm. The yield gradually decreased with increasing distance, and at 30 mm, the concentration was below the limit of detection. In the case of the Ar/0.8% O_2 plasma jet, the optimum distance was $d_{opt} = 20$ mm, and the RCS yield decreased more rapidly with decreasing distance. The absorption maximum at 292 nm (Figure S2) is mostly due to OCl^-, and the absorption peak of HOCl at 236 nm is expected to appear at a lower pH because of Reaction (3).[21] However, in our spectra, this region overlapped with the absorption bands of RONS, and we detected only traces of HOCl absorbance after reducing the pH of PAM (Figure 7).

For treatment durations up to 2 min, the RCS yield coincided within the uncertainty margins for both feed gases, while at longer treatment durations, the He/0.8% O_2 jet produced more RCS (Figure 3).

The RCS production rate was highest at the beginning of the treatment at a lower pH (Figure 3 inset), indicating the dominant role of OCl^--related quenching mechanisms. The production rate of RCS for up to 1 min of treatment was ≈ 0.7 mM/min. The lower RCS yield for the Ar/O_2 plasma jet could be due to less efficient O atom production by the Ar/O_2 plasma jet.[14] We indirectly assessed the production efficiency of O atoms by analyzing O_3 formation in the liquid. Ozone can be produced by both liquid- and gas-phase reactions. Liquid-phase reaction

$$O + O_2 \rightarrow O_3, \quad (7)$$

has a high rate coefficient of $k_7 = 4 \times 10^9\ M^{-1}\ s^{-1}$,[43] and has been recognized as an important O atom loss mechanism in liquids.[27] However, with respect to O_3 formation in plasma-treated liquids, the gas-phase reaction is considered to dominate.[44,45]

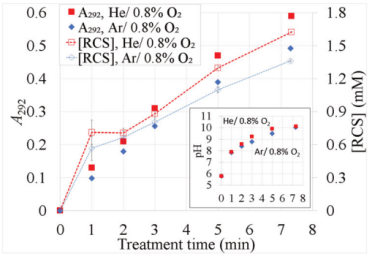


FIGURE 3 Absorbance at 292 nm (A_{292}), calculated [RCS], and pH (inset) as a function of treatment time. Pressure 200 Torr, generator power 75 W, feed gas flow rate 400 sccm, and the distance between tube nozzle and liquid surface in the case of He/0.8% O_2 and Ar/0.8% O_2 were 5 and 20 mm, respectively.

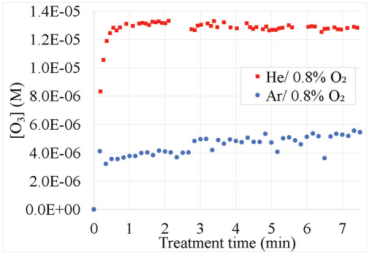


FIGURE 4 Ozone concentration in deionized water as a function of plasma treatment time, in situ experiment. The same experimental conditions as in Figure 3.

$$O + O_2 + M \rightarrow O_3 + M, \quad (8)$$

where M is the third body: Ar, He, or O_2. Owing to the strong interference of the absorption bands of saline and RCS in the diagnostic spectral range of RONS, absorption spectra were recorded using deionized water (Figure S3). The presence of RNS in the water is likely due to the leakage of air into the vacuum system. The temporal dynamics of the O_3 concentration in the liquid were investigated in situ due to the fast decay of the O_3 concentration after the end of plasma treatment. The O_3 concentration in the water reached an almost stable level within the first minute of the plasma treatment and was higher in the case of the He/0.8% O_2 plasma jet (Figure 4).

The rapid saturation of the O_3 concentration in water can be explained by the low solubility of O_3 in liquids. The rate constant of Reaction (8) depends on the gas temperature and third body M. By using gas temperatures estimated on the basis of N_2(C-B,0-1) rotational spectra (Figure 2), the calculated two body rate constants of Reaction (8) for M = Ar or He are $k_{M=Ar} = 1.4 \times 10^{-16}$ cm^3/s and $k_{M=He} = 6.5 \times 10^{-16}$ cm^3/s, respectively.[46] Because of its low concentration, O_2 as a third particle is less efficient in O_3 production ($k_{Ar,M=O2} = 4.5 \times 10^{-18}$ cm^3/s and $k_{He,M=O2} = 1 \times 10^{-17}$ cm^3/s).[47] Because the plasma gas residence time is more than an order of magnitude smaller than the reaction time of Reaction (8), the yield of O_3 in the liquid is determined by the rate of Reaction (8). Considering the rate constants of Reaction (8) and O_2 densities in plasma jets, the rate of Reaction (8) was approximately seven times higher for He/0.8% O_2 while the measured O_3 concentration was only 2.5–3 times higher (Figure 4). This indicates that the production efficiency of O atoms in the Ar/0.8% O_2 plasma jet was higher than that in the He/0.8% O_2.

Another possible explanation for the reduced RCS yield may be the enhanced quenching of RCS by H_2O_2 and NO_2^- in the liquid (Reactions 4 and 5). In situ experiments showed that H_2O_2 concentration in deionized water reached ≈ 0.35 mM after 7.3 min of Ar/0.8% O_2 plasma treatment (Figure 5c) while it was below the detection limit of the method in the case of He/0.8% O_2 treatment. The alternative method for H_2O_2 concentration estimation, using Fluorimetric Hydrogen Peroxide Assay Kit MAK166, resulted in H_2O_2 concentration values of 0.40 ± 0.05 and 0.04 ± 0.02 mM for the same treatment duration of Ar/0.8% O_2 and He/0.8% O_2 plasma jets, respectively. Because of the relatively low NO_2^- content, RCS quenching occurred primarily by H_2O_2 via Reaction (4). The importance of H_2O_2 as an RCS quencher is also supported by the fact that generally H_2O_2 and RCS are not detected simultaneously in PAM,[14,25] and RCS reacts with H_2O_2 in a 1:1 stoichiometry (Figure S4). The production of H_2O_2 occurs near the liquid surface, where plasma gases mix with water vapor via the reactions $OH + OH + M \rightarrow H_2O_2 + M$.[48] Notably, radiation from the OH radical was observed in the spectrum of Ar/0.8% O_2 plasma, but not in the case of He/0.8% O_2 plasma (Figure 2). H_2O_2 can also be produced in the reaction between the singlet state O atoms and water,[49] $O + H_2O \rightarrow H_2O_2$ and this reaction results in the quenching of part of O atoms, which are the RCS precursor.

The highest concentration among various RNS species was detected in the case of Ar/0.8% O_2 feed gas for NO_3^- which reached up to ≈ 8×10^{-5} M after 7.3 min of deionized water plasma treatment, whereas the concentration of NO_2^- was approximately four times lower (Figure 5a,b).

We checked the correctness of the RNS concentration determination using the measured pH. During the water plasma treatment, the pH decreased, and this was connected with the formation of NO_2^- and NO_3^-.[24] After

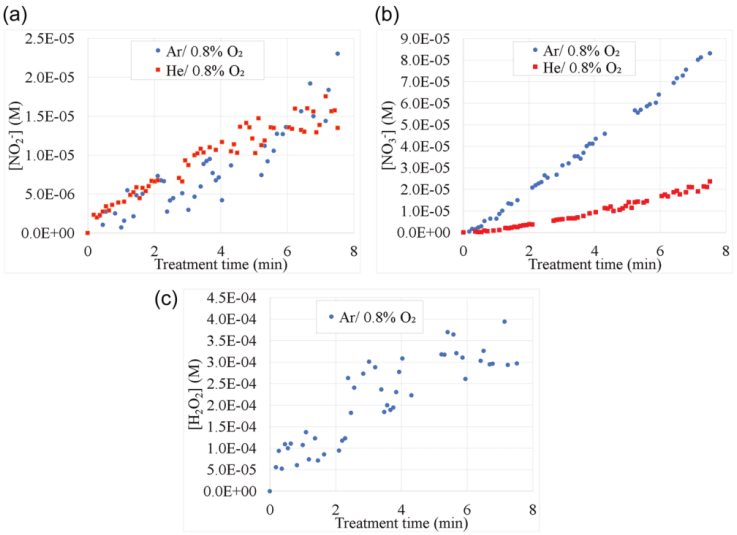


FIGURE 5 The concentration of RONS in deionized water as a function of treatment time, measured in situ. (a) NO_2^-, (b) NO_3^-, and (c) H_2O_2. For He/0.8% O_2 plasma jet treatment, H_2O_2 concentration remained below the detection limit of the used method (data points are not shown). The experimental conditions were the same as in Figure 3.

7.3 min of plasma treatment, the water pH was 4.1 in the case of the treatment with Ar/0.8% O_2 plasma jet and 4.6 in the case of treatment with He/0.8% O_2, which is well above the pKa values of HNO_2 (pKa = 3.3) and HNO_3 (pKa = −1.4). Thus, the sum of the concentrations $[NO_2^-] + [NO_3^-]$ should be similar to the proton concentration $[H^+]$ determined from pH measurements. In the case of Ar/0.8% O_2 plasma treatment, the RNS concentration $[NO_2^-] + [NO_3^-]$ was 1×10^{-4} M (Figure 5a,b) and $[H^+]$ concentration was 8×10^{-5} M. In the case of He/0.8% O_2 plasma treatment, the same concentrations were 3.5×10^{-5} and 2.5×10^{-5} M, respectively. For both plasma treatments, the differences in the concentrations of $[NO_2^-] + [NO_3^-]$ and $[H^+]$ were within the uncertainty margins of pH measurements.

Under acidic conditions in the presence of H_2O_2, NO_2^- is converted to NO_3^- via the following reaction[50]:

$$NO_2^- + H_2O_2 + H^+ \rightarrow NO_3^- + H_2O + H^+. \quad (9)$$

This reaction is important only in the case of low pH of plasma-treated water. At a higher pH, Reaction (9) becomes unimportant, resulting in NO_2^- concentrations equal to or higher than the NO_3^- concentration.[50] Thus, in plasma-treated saline with pH >6 (Figure 3 inset), more NO_2^- was available for RCS quenching in Reaction (5).

Because O_3 in PAM could have an impact on biomedical tests,[51] we investigated the O_3 content of plasma-treated saline. In situ experiments were carried out using Ar/0.8% O_2 feed gas, and the ambient O_2 gas flow rate was increased 20 times (to 1000 sccm) to produce more O_3 in saline (an example of the absorption spectrum is shown in Figure S5). Owing to the higher O_2 content in the chamber, the initial O_3 concentration increased ≈ two times; however, instead of an almost stable level of O_3 concentration seen in the case of plasma treatment of water (Figure 4), the O_3 concentration in saline decreased with treatment time (Figure 6), which could be explained by the increasing O_3 decomposition rate with increasing pH.[52]

Importantly, after the end of the plasma treatment, O_3 completely disappeared from PAM in less than 10 s, that is, before the viability tests. This experiment also showed that the production of RCS in O_3-rich ambient gas was approximately 30% lower than that under O_3-poor conditions (Figure 3), suggesting the low importance of RCS production via Reaction (1).

We also attempted to produce RCS in the open air. Ar/0.15% O_2 plasma jet was used to treat saline; however, RCS was not generated when different distances between the tube orifice and saline were tested. At a distance of 20 mm, a small amount of RCS was produced, but only when the plasma gases were shielded from open air by an

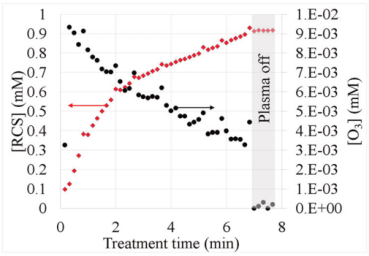


FIGURE 6 Concentrations of RCS and O_3 as a function of saline treatment time. In situ experiment. Pressure 200 Torr, generator power 75 W, Ar/0.8% O_2 feed gas flow rate 400 sccm, ambient O_2 gas flow rate 1000 sccm, and the distance between tube nozzle and liquid surface 20 mm.

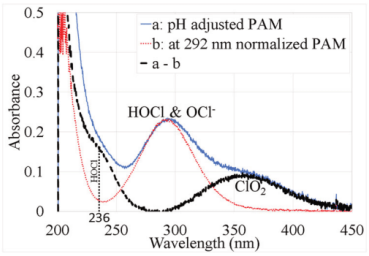


FIGURE 7 Absorption spectrum of pH-adjusted PAM (a), PAM normalized at 292 nm (b) and the difference of these two spectra (a–b). The absorption maximum of HOCl is expected at 236 nm (marked by a vertical dotted line). Pressure 200 Torr, generator power 75 W, He/0.8% O_2 feed gas flow rate 1000 sccm, and the distance between tube nozzle and liquid surface 5 mm.

additional quartz tube. Plasma treatment for 40 min resulted in approximately 1 mM RCS, whereas pH 7.3 was remarkably lower than that found in the experiments described above. Lower pH value in the case of open-air treatment is related to the production of RNS,[24] and HOCl quenching via Reaction (5). A larger yield of RCS produced by an Ar/1% O_2 plasma jet was found in a study in which a needle-to-cylinder electrode configuration was used.[26] Besides, the larger the O_2 concentration in the feed gas, the higher RCS production rate could be due to the shorter plasma jet in this type of electrode configuration,[53] which enables to avoid the production of H_2O_2.

3.3 | Cell viability tests

3.3.1 | Preparation of PAM for viability tests

PAM was prepared by treating saline with He/0.8% O_2 plasma jet. The flow rate of the feed gas was increased to 1000 sccm to reduce the impurity concentration. Other treatment parameters were the same as given above (pressure 200 Torr, plasma power 0.7 W, and the distance between the tube nozzle and the saline surface was 5 mm). The duration of the plasma treatment was 30 min.

The pH of freshly prepared PAM was approximately 10. Although cell culture medium (CCM) contained buffering chemicals that helped to maintain a suitable pH level for cells, its buffering capacity was not sufficient to lower the pH of the PAM + CCM mixture (1:1) to a suitable value for cells; after mixing PAM and CCM, the pH remained well above 8. This value is higher than that of pure CCM (≈ 7.5) and can influence cell viability. For example, the deactivation of catalase by HOCl is suppressed at pH >8.[17] Therefore, before mixing with CCM, we reduced the PAM pH to 7.5 by adding a small amount of 0.2 M NaH_2PO_4. Figure 7 shows the absorption spectrum of pH-adjusted PAM (curve (a)) together with the spectrum of fresh PAM (normalized at 292 nm, curve (b)) and the difference between these two spectra (curve (a–b)), revealing acidification-induced changes in the absorption spectrum.

The decrease in pH of PAM caused an increase in HOCl concentration due to the shift in pH-dependent equilibrium between OCl^- and HOCl concentrations (Equation 3), indicated by increased absorption of HOCl at 236 nm in the curve (a–b).[21] After pH adjustment, the concentrations of HOCl and OCl^- were almost equal because pH ≈ pKa. However, the total RCS concentration decreased from 2.4 to 2 mM. The decrease due to acidification could be partly explained by the production of ClO_2 indicated by the appearance of a broad absorption band near 360 nm,[54,55] produced via the following reaction:

$$2ClO_2^- + HOCl \rightarrow 2ClO_2 + Cl^- + OH^-. \quad (10)$$

By using ClO_2 molar attenuation coefficient 1.25 $mM^{-1}\,cm^{-1}$ at 360 nm,[56] the concentration of ClO_2 in our solution is ≈0.1 mM. Notably, ClO_2 could also be produced in the reaction between O_3 and ClO_2^- and indeed, a small ClO_2 absorption was observed in the experiment with increased O_3 production (Figure S5). The absorption of ClO_2^- at 260 nm was revealed in the absorption spectrum after the complete removal of RCS from PAM by H_2O_2 (Reaction 4) (Figure S4).[21] The addition of H_2O_2 also decreased the pH of PAM, and after the complete removal of RCS, the pH was close to that of pH-adjusted PAM. Using molar absorptivity at 260 nm,

154 M^{-1} cm^{-1},[57] and the registered absorbance, $A = 0.09$ (Figure S4), the concentration of ClO_2^- was ≈0.6 mM.

The stability of RCS in PAM after plasma treatment was checked by determining RCS concentration after 12 h of storage in open air. The 12-h storage caused RCS concentration to decrease from 2.4 to 2.2 mM (Table S1), indicating that before the acidification and viability tests, RCS degradation in PAM could be neglected.

Despite the high gas temperature, the temperature of the liquid decreased during 30 min of treatment from 22°C to 9°C due to the enhanced evaporation at low pressure. Before addition to the cells, PAM was warmed to room temperature.

3.3.2 | The influence of H_2O_2 and plasma-produced RCS on HepG2 cell viability

The increase in the concentrations of both H_2O_2 and RCS in CCM caused a decrease in HepG2 cell viability, whereas H_2O_2 was more cytotoxic than RCS (Figure 8).

Our results differ from those of a recent study with other cancer cell lines (HT-29, Panc-01, and SKOV-3) and healthy HaCaT keratinocytes, where cells were more sensitive to RCS.[15] Since chemically produced RCS was used in that study then compared to our PAM its chemical composition was probably different. In PAM, we detected ClO_2, ClO_2^-, and NO_3^- which could affect cell viability. However, these additives suppress, rather than promote, cancer cell viability. Indeed, the concentration of dissolved ClO_2 in our PAM (~0.1 mM) has been shown to have cytotoxic effects in the small-cell lung cancer cell line DMS114,[58] while the ClO_2^- efficiently inactivates myeloperoxidase,[59] which is also expressed in HepG2,[60] and has been shown to induce apoptosis in cancer cells.[61] Low concentrations of NO_3^- are usually recognized as nontoxic to cells.[10,62] In addition to these agents, PAM could contain other undetected reactive species that promote cancer cell viability. To verify this assumption, the impact of H_2O_2 and RCS on the viability of the melanoma cell line, M21, was tested. This cell line was chosen because it was more sensitive to H_2O_2 treatment than several other cell lines (MKN-45, CT-26, SKOV-3, PPC1, and U-87). Viability tests showed that the M21 cell line was more sensitive to RCS than H_2O_2 treatment: for 0.5 mM H_2O_2, the viability was $93 \pm 6\%$ and for RCS $63 \pm 12\%$ suggesting also that opposite sensitivity to these agents in the case of HepG2 is likely not due to RCS additives. The most likely reason for the diverse sensitivity of HepG2 cells to RCS and H_2O_2 compared to other cell lines lies in the differences in the activity of the antioxidant system of these cell lines. HepG2 cells overexpress BCL-2 family proteins, protecting cells from apoptotic death.[63] Overexpression of BCL-2 family proteins could explain the low impact of RCS on cell viability in our experiment, as RCS has been shown to cause apoptotic cell death in HepG2.[64]

In addition, HepG2 cells exhibit high catalase activity.[65] Therefore, H_2O_2 cytotoxicity can be potentiated by catalase inactivation before H_2O_2 treatment, and RCS has been shown to induce catalase inhibition.[17] Moreover, when RCS are not completely consumed by cells, the addition of H_2O_2 can produce singlet oxygen via Reaction (4), which can also inactivate membrane-associated catalase.[11] HepG2 cells were treated with RCS (0.5 mM) for 2 h followed by 0...1.2 mM H_2O_2 treatment. However, this procedure did not alter the sensitivity of HepG2 cells to H_2O_2 (Figure 8). It is possible that the added HOCl was consumed by HepG2 cells and catalase activity was restored before H_2O_2 treatment.

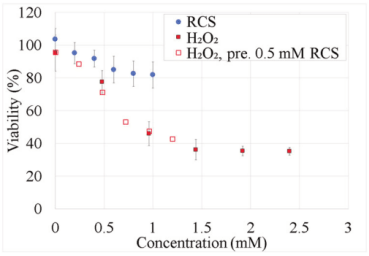


FIGURE 8 The viability of HepG2 cell as a function of RCS and H_2O_2 content. Red open squares- cells were first treated with 0.5 mM RCS for 2 h and then with H_2O_2. Error bars are of A-type (confidence level 90%). Note that RCS concentration is given by considering PAM dilution in CCM (1:1).

4 | SUMMARY AND CONCLUSIONS

The present study investigated the production of RCS in saline using Ar/O_2 and He/O_2 RF plasma jets and the sensitivity of liver cancer cell HepG2 to H_2O_2 and plasma-produced RCS. RCS generation by Ar/O_2 and He/O_2 plasma jets was studied using a reactor isolated from ambient air and operating in a controlled gas environment (Ar/O_2 or He/O_2). The treatment was performed in the noncontact mode to suppress the production of RCS quenching compounds. Both plasma jets produced RCS; however, at similar plasma powers, pressures, and feed gas flow rates, RCS production was more effective for the He/O_2 jet. The production efficiency of the RCS precursor, oxygen atoms, was

higher for the Ar/O_2 plasma jet, and the lower RCS yield in the case of the Ar/O_2 plasma jet was mainly due to the higher quenching of the RCS, mainly by H_2O_2. The formation of O_3 in the gas phase somewhat reduced the RCS yield. The critical parameter for RCS production was the distance between the plasma tube nozzle and the liquid surface, which determined the H_2O_2 production and transport of the RCS precursor O atoms to the saline. The optimal distance was approximately four times larger for the Ar/O_2 jet than that for the He/O_2 jet. In the absence of O_2 in the feed gases, RCS was not produced, even at high O_2 concentrations in the ambient gases. The RCS production rate was remarkably lower in the open air than in the case of treatment in the isolated chamber.

Viability tests showed that HepG2 cells were more sensitive to H_2O_2 than RCS, possibly due to the more active specific antioxidant system in these cells. Further studies are needed to elucidate the molecular mechanism of action of reactive species in HepG2 cells.

ACKNOWLEDGMENTS

The present study was supported by Estonian Research Council Grants No. PUT1432, PSG448, PRG230, PRG1788, EAG79, Euronanomed II projects ECM-CART and iNanoGun and COST Action CA20114 PlasTher, supported by COST (European Cooperation in Science and Technology). The authors would like to thank Dr. Kalle Kilk and Dr. Rando Porosk from Tartu University who kindly helped with reagents for chemical experiments.

CONFLICT OF INTEREST STATEMENT

The authors declare no conflict of interest.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

The data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

ORCID

Sirli Raud http://orcid.org/0000-0003-1643-835X
Jüri Raud http://orcid.org/0000-0002-4189-9871
Lauri Aarik http://orcid.org/0000-0002-7785-1351
Indrek Jõgi http://orcid.org/0000-0003-0007-8732
Markus Kivimäe http://orcid.org/0009-0007-9646-3585
Carl-Thomas Piller http://orcid.org/0000-0002-4632-4268
Mario Plaas http://orcid.org/0000-0002-1841-9059
Toomas Plank http://orcid.org/0000-0001-5806-4953
Rasmus Talviste http://orcid.org/0000-0003-1076-0452
Tambet Teesalu http://orcid.org/0000-0002-9458-6385
Eero Vasar http://orcid.org/0000-0001-5226-345X

REFERENCES

[1] S. Bekeschus, T. von Woedtke, S. Emmert, A. Schmidt, *Redox Biol.* **2021**, *46*, 102116.
[2] A. C. Borges, K. G. Kostov, R. S. Pessoa, G. M. A. de Abreu, G. M. G. Lima, L. W. Figueira, C. Y. Koga-Ito, *Appl. Sci.* **2021**, *11*, 1975.
[3] H. Tanaka, S. Bekeschus, D. Yan, M. Hori, M. Keidar, M. Laroussi, *Cancers* **2021**, *13*(7), 1737.
[4] M. Mateu-Sanz, J. Tornín, M. P. Ginebra, C. Canal, *J. Clin. Med.* **2021**, *10*, 893.
[5] J. Tornin, C. Labay, F. Tampieri, M. P. Ginebra, C. Canal, *Nat. Protoc.* **2021**, *16*, 2826.
[6] N. Kumar, P. Attri, S. Dewilde, A. Bogaerts, *J. Phys. D: Appl. Phys.* **2018**, *51*, 255401.
[7] S. Bekeschus, A. Lin, A. Fridman, K. Wende, K. D. Weltmann, V. Miller, *Plasma Chem. Plasma Process.* **2018**, *38*, 1.
[8] M. Dezest, L. Chavatte, M. Bourdens, D. Quinton, M. Camus, L. Garrigues, P. Descargues, S. Arbault, O. Burlet-Schiltz, L. Casteilla, F. Clément, V. Planat, A. L. Bulteau, *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 41163.
[9] E. Freund, K. R. Liedtke, J. van der Linde, H. R. Metelmann, C. D. Heidecke, L. I. Partecke, S. Bekeschus, *Sci. Rep.* **2019**, *9*, 634.
[10] P.-M. Girard, A. Arbabian, M. Fleury, G. Bauville, V. Puech, M. Dutreix, J. S. Sousa, *Sci. Rep.* **2016**, *6*, 29098.
[11] G. Bauer, D. Sersenová, D. B. Graves, Z. Machala, *Sci. Rep.* **2019**, *9*, 13931.
[12] A. J. Kettle, C. C. Winterbourn, *Redox Rep.* **1997**, *3*, 3.
[13] T. W. Liu, S. T. Gammon, P. Yang, D. Fuentes, D. P. Worms, *Sci. Signaling* **2021**, *14*, 677.
[14] S. Bekeschus, R. Clemen, F. Nießner, S. K. Sagwal, E. Freund, A. Schmidt, *Adv. Sci.* **2020**, *7*, 1903438.
[15] E. Freund, L. Miebach, M. Stope, S. Bekeschus, *Oncol. Rep.* **2021**, *45*, 71.
[16] K. Wende, P. Williams, J. Dalluge, W. Van Gaens, H. Aboubakr, J. Bischof, T. von Woedtke, S. M. Goyal, K.-D. Weltmann, A. Bogaerts, K. Masur, P. J. Bruggeman, *Biointerphases* **2015**, *10*, 029518.
[17] J. Krych-Madej, L. Gebicka, *Int. J. Biol. Macromol.* **2015**, *80*, 162.
[18] G. Bauer, *Anticancer Res.* **2012**, *32*, 2599.
[19] G. Bauer, *Anticancer Res.* **2014**, *34*, 1467.
[20] K. A. White, B. K. Grillo-Hill, D. L. Barber, *J. Cell Sci.* **2017**, *130*, 663.
[21] V. Jirásek, P. Lukeš, *Plasma Sources Sci. Technol.* **2019**, *28*, 035015.
[22] Z. C. Liu, L. Guo, D. X. Liu, M. Z. Rong, H. L. Chen, M. G. Kong, *Plasma Processes Polym.* **2017**, *14*, 1600113.
[23] J. C. Morris, *J. Phys. Chem.* **1966**, *70*, 3798.
[24] R. Talviste, S. Raud, I. Jõgi, T. Plank, J. Raud, T. Teesalu, *Plasma Res. Express* **2019**, *1*, 045002.
[25] R. Clemen, E. Freund, D. Mrochen, L. Miebach, A. Schmidt, B. H. Rauch, J. W. Lackmann, U. Martens, K. Wende, M. Lalk, M. Delcea, B. M. Bröker, S. Bekeschus, *Adv. Sci.* **2021**, *8*, 2003395.
[26] V. S. S. K. Kondeti, C. Q. Phan, K. Wende, H. Jablonowski, U. Gangal, J. L. Granick, R. C. Hunter, P. J. Bruggeman, *Free Radicals Biol. Med.* **2018**, *124*, 275.

[27] V. Jirásek, P. Lukeš, *J. Phys. D: Appl. Phys.* **2020**, *53*, 505206.
[28] V. A. Arzumanian, O. I. Kiseleva, E. V. Poverennaya, *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 13135.
[29] J. F. Chiou, C. J. Tai, Y. H. Wang, T. Z. Liu, Y. M. Jen, C. Y. Shiau, *Cancer Biol. Ther.* **2009**, *8*, 1904.
[30] S. Raud, J. Raud, I. Jõgi, C.-T. Piller, T. Plank, R. Talviste, T. Teesalu, E. Vasar, *Plasma Chem. Plasma Process.* **2021**, *41*, 1381.
[31] H. Noori, J. Raud, R. Talviste, I. Jõgi, *Ozone: Sci. Eng.* **2021**, *43*, 284.
[32] K. Tachibana, T. Nakamura, *J. Phys. D: Appl. Phys.* **2019**, *52*, 385202.
[33] Y. Feng, D. W. Smith, J. R. Bolton, *J. Environ. Eng. Sci.* **2007**, *6*, 277.
[34] R. J. Barnes, A. Sinha, H. A. Michelsen, *J. Phys. Chem. A* **1998**, *102*, 8855.
[35] J. Raud, I. Jõgi, L. Matisen, Z. Navrátil, R. Talviste, D. Trunec, J. Aarik, *J. Phys. D: Appl. Phys.* **2017**, *50*, 505201.
[36] I. Jõgi, J. Raud, K. Hein, M. Laan, *J. Phys. D: Appl. Phys.* **2014**, *47*, 335206.
[37] A. Kramida, Y. u Ralchenko, J. Reader, NIST ASD Team, NIST Atomic Spectra Database Lines Form, NIST At. Spectra Database (ver. 5.10), **2022**.
[38] J. Raud, I. Jõgi, M. Laan, M. Laast, *Eur. Phys. J. Appl. Phys.***2013**, *61*, 24326.
[39] J. Raud, M. Laan, I. Jõgi, *J. Phys. D: Appl. Phys.* **2011**, *44*, 345201.
[40] L. A. Guildner, *J. Res. Natl. Bur. Stand., Sect. A* **1975**, *79A*, 407.
[41] R. Talviste, K. Erme, P. Paris, J. Raud, T. Plank, I. Jõgi, *AIP Adv.* **2022**, *12*, 105213.
[42] R. Talviste, K. Erme, P. Paris, J. Raud, T. Plank, I. Jõgi, *Phys. Scr.* **2023**, *98*, 045613.
[43] U. K. Kläning, K. Sehested, T. Wolff, *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 1* **1984**, *80*, 2969.
[44] S. A. Norberg, W. Tian, E. Johnsen, M. J. Kushner, *J. Phys. D: Appl. Phys.* **2014**, *47*, 475203.
[45] W. Ning, H. Shang, Y. Ji, R. Li, L. Zhao, X. Huang, S. Jia, *High Voltage* **2022**, *8*, 326.
[46] H. Hippler, R. Rahn, J. Troe, *J. Chem. Phys.* **1990**, *93*, 6560.
[47] G. Park, H. Lee, G. Kim, J. K. Lee, *Plasma Processes Polym.* **2008**, *5*, 569.
[48] C. A. Vasko, D. X. Liu, E. M. Van Veldhuizen, F. Iza, P. J. Bruggeman, *Plasma Chem. Plasma Process.* **2014**, *34*, 1081.
[49] S. Xu, V. Jirasek, P. Lukes, *J. Phys. D: Appl. Phys.* **2020**, *53*, 275204.
[50] R. Talviste, I. Jõgi, S. Raud, H. Noori, J. Raud, *Plasma Chem. Plasma Process.* **2022**, *42*, 1101.
[51] V. Simonetti, V. Quagliariello, P. Giustetto, M. Franzini, R. V. Iaffaioli, *Evidence-Based Complementary Altern. Med.* **2017**, *2017*, 7414083.
[52] M. D. Gurol, P. C. Singer, *Environ. Sci. Technol.* **1982**, *16*, 377.
[53] I. Jõgi, R. Talviste, S. Raud, J. Raud, T. Plank, L. Moravský, M. Klas, Š. Matejčík, *Contrib. Plasma Phys.* **2020**, *60*, e201900127.
[54] C. Brogren, H. T. Karlsson, I. Bjerle, *Chem. Eng. Technol.* **1998**, *21*, 61.
[55] J. A. Poulsen, C. L. Thomsen, S. R. Keiding, J. Tho/gersen, *J. Chem. Phys.* **1998**, *108*, 8461.
[56] U. K. Klaning, K. Sehested, J. Holcman, *J. Phys. Chem.* **1985**, *89*, 760.
[57] C. S. Furman, D. W. Margerum, *Inorg. Chem.* **1998**, *37*, 4321.
[58] S. Z. Yıldız, C. Bilir, G. G. Eskiler, F. Bilir, *Cureus* **2022**, *14*, 29989.
[59] C. Jakopitsch, K. F. Pirker, J. Flemmig, S. Hofbauer, D. Schlorke, P. G. Furtmüller, J. Arnhold, C. Obinger, *J. Inorg. Biochem.* **2014**, *135*, 10.
[60] E. B. Randi, K. Zuhra, L. Pecze, T. Panagaki, C. Szabo, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2021**, *118*, e2026245118.
[61] G. M. Saed, R. Ali-Fehmi, Z. L. Jiang, N. M. Fletcher, M. P. Diamond, H. M. Abu-Soud, A. R. Munkarah, *Gynecol. Oncol.* **2010**, *116*, 276.
[62] K. Sklias, J. Santos Sousa, P. M. Girard, *Cancers* **2021**, *13*, 615.
[63] B. Smolková, M. Lunova, A. Lynnyk, M. Uzhytchak, O. Churpita, M. Jirsa, Š. Kubinová, O. Lunov, A. Dejneka, *Cell. Physiol. Biochem.* **2019**, *52*, 119.
[64] M. Whiteman, P. Rose, J. L. Siau, N. S. Cheung, G. S. Tan, B. Halliwell, J. S. Armstrong, *Free Radical Biol. Med.* **2005**, *38*, 1571.
[65] M. X. Zhao, J. L. Wen, L. Wang, X. P. Wang, T. S. Chen, *Cell Stress Chaperones* **2019**, *24*, 609.

SUPPORTING INFORMATION

Additional supporting information can be found online in the Supporting Information section at the end of this article.

How to cite this article: S. Raud, J. Raud, L. Aarik, I. Jõgi, M. Kivimäe, C.-T. Piller, M. Plaas, T. Plank, R. Talviste, T. Teesalu, E. Vasar, *Plasma Process. Polym.* **2023**;*20*:e2300068. https://doi.org/10.1002/ppap.202300068

Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, Markus Kivimäe,

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) minu loodud teose
   Heeliumi metastabiilses seisundis 2^3S olevate aatomite kontsentratsiooni määramine He/O_2 plasmas neeldumisspektroskoopia meetodil,
   mille juhendaja on Jüri Raud,
   reprodutseerimiseks eesmärgiga seda säilitada, sealhulgas lisada digitaalarhiivi DSpace kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.

2. annan Tartu Ülikoolile loa teha punktis 1 nimetatud teos üldsusele kättesaadavaks Tartu Ülikooli veebikeskkonna, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace kaudu Creative Commonsi litsentsiga CC BY NC ND 4.0, mis lubab autorile viidates teost reprodutseerida, levitada ja üldsusele suunata ning keelab luua tuletatud teost ja kasutada teost ärieesmärgil, kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.

3. olen teadlik, et punktides 1 ja 2 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.

4. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei riku ma teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse õigusaktidest tulenevaid õigusi.

Markus Kivimäe

31.05.2025